

Table 1 Seasonal Changes in bacterial counts from air and surfaces in 4 plants

Plant			April, 2008	July, 2008
A	Bacterial counts	Air ¹⁾	621±315(6)	385±245(6)
		Surface ²⁾	375±307(15)	141±12(45)
	Climate	Temp. (°C)	17.8±2.5(3)	31.8±1.0(3)
		RH (%)	67.3±17.9(3)	55.0±8.2(3)
B	Bacterial counts	Air	538±243(6)	196±149(6)
		Surface	122±49(15)	42±36(45)
	Climate	Temp. (°C)	18.6±1.8(3)	28.6±1.9(3)
		RH (%)	57.4±13.9(3)	59.0±4.2(3)
C	Bacterial counts	Air	924±746(6)	546±163(6)
		Surface	129±92(15)	75±93(33)
	Climate	Temp. (°C)	20.1±4.8(3)	30.3±2.0(3)
		RH (%)	70.3±16.6(3)	60.7±8.7(3)
D	Bacterial counts	Air	558±441(5)	650±355(18)
		Surface	915±764(15)	167±42(75)
	Climate	Temp. (°C)	17.4±3.9(3)	22.9±0.3(3)
		RH (%)	74.7±21.2(3)	75.3±0.5(3)

* The figures in the table were M±SD(test sample number).

1) CFU/m³ 2) CFU/9cm²

Table 2 Grouping of bacterial strains from 4 plants

Bacterial parameters	No. (%) of isolated strains			
	Air		Surface	
	April	July	April	July
Gram positive cocci	53(47)	76(43)	32(19)	54(25)
Gram positive rods				
• sporeformers	25(22)	71(41)	56(33)	79(37)
• nonsporeformers	28(25)	24(14)	50(30)	71(33)g
Others	7(6)	3(2)	30(18)	12(5)
Total	113(100)	174(100)	168(100)	216(100)

Table 3 Differentiation of gram-positive cocci isolated from air and surfaces in 4 plants.

bacterial parameters	No. (%) of isolates from plant			
	Total			
	April		July	
<strains from air>				
gram positive cocci	32	(100)	71	(100)
<i>Staphylococcus</i>	15	(47)	27	(38)
<i>Micrococcus</i>	1	(3)	13	(18)
others	16	(50)	31	(44)
<strains from surfaces>				
gram positive cocci	53	(100)	36	(100)
<i>Staphylococcus</i>	45	(85)	18	(50)
<i>Micrococcus</i>	0		7	(19)
others	8	(15)	11	(31)

Table 4 Identification of *Bacillus* isolates from air and surfaces in 4 plants.

species	No. (%) of isolates from plant			
	Total			
	April		July	
< <i>Bacillus</i> spp. from air>				
<i>B. cereus</i>	0		0	
<i>B. subtilis</i>	0		28	(42)
<i>B. licheniformis</i>	10	(42)	0	
<i>B. pumilus</i>	0		4	*(6)
<i>B. sphaericus</i>	7	(29)	4	(6)
<i>B. megaterium</i>	4	(17)	22	(33)
others	3	(13)	9	(13)
total	24	(100)	67	(100)
< <i>Bacillus</i> spp. from surfaces>				
<i>B. cereus</i>	2	(4)	6	(10)
<i>B. subtilis</i>	1	(2)	11	(18)
<i>B. licheniformis</i>	8	(17)	4	(7)
<i>B. pumilus</i>	0		2	(3)
<i>B. sphaericus</i>	10	(21)	0	
<i>B. megaterium</i>	7	(15)	15	(25)
others	19	(40)	22	(37)
total	47	(100)	60	(100)

Table 5 Total plate counts, coliforms numbers, and lactic acid bacteria counts in pickles

Plant	Materials	SPC ¹⁾	coliforms ²⁾	LAB ³⁾	pH	salt conc. (%)		
A	July, 2008	1 salted radish	300>	-	300>	4.5	2.6	
		2 salted radish	300>	-	300>	4.6	2.0	
		3 radish, salted	300>	43	750	4.9	2.6	
		4 salted radish	300>	-	300>	4.7	3.1	
	April, 2008	1 salted radish	300>	-	300>	4.5	2.7	
		2 salted radish	300>	-	300>	4.4	3.4	
B	July, 2008	3 salted radish	300>	-	1100	5.2	2.2	
		1 radish, syoyu	3000<	4	3000<	4.9	2.4	
		2 salted radish	300>	4	300>	4.4	2.5	
		3 salted radish	300>	9	300>	4.4	1.0	
		4 salted radish	300>	240	300>	4.2	1.8	
		5 radish and carrot, salted	300>	-	150	4.6	2.2	
C	April, 2008	6 radish and citron, salted	300>	-	300	4.8	2.2	
		1 salted radish	300>	-	300>	4.2	2.3	
		2 radish, syoyu	300>	-	300>	5.0	2.0	
		3 radish, salted	300>	-	300>	5.0	2.3	
C	July, 2008	4 salted radish	300>	-	300>	4.4	2.1	
		1 gingers, vinegar	300>	-	300>	3.0	4.1	
		April, 2008	1 gingers, vinegar	300>	-	720	3.2	4.1
		2 gingers, vinegar	300>	-	300>	3.2	2.1	
D	July, 2008	1 gingers, vinegar	300>	-	300>	3.1	1.3	
		2 cucumber, eggplant and gingers, solted	3000<	1100<	3000<	6.3	2.3	
		3 chinese cabbage and citron, salted	680	1100	850	5.5	3.2	
		4 cereley and carrot, salted	780	3	850	5.4	2.1	
		5 Mibuna, syoyu	3000<	9	3000<	5.3	2.8	
		6 egg plant, salted	1500	93	3800	6.1	3.1	
		7 Japanese gingers, vinegar	300>	-	300>	3.4	2.4	
		8 radish, salted	560	240	3000<	5.7	3.3	
		9 cucumber and gingers, salted	1200	240	2700	5.6	2.8	
April, 2008	1 cucumber and perilla, salted	300>	-	300>	5.7	2.2		
	2 Chinese cabbage and citron, salted	300>	-	3000<	6.1	3.5		
	3 turnip, cucumber and carrot, salted	300>	-	420	6.2	2.4		

1) Standard plate counts:cfu/g; 2) coliform bacteria: MPN/g; 3) lactic acid

bacteria:cfu/g

工場内拭き取り検査

(単位:100cm²当たり)

No	室名	拭き取り箇所	平成19年度調査				平成20年度調査				
			H19.10.17		H20.1.29		H20.6.26		H20.11.14		
			一般生菌数	リステリア属菌	一般生菌数	リステリア属菌	一般生菌数	リステリア属菌	一般生菌数	リステリア属菌	
1	サニタリールーム	拭き取り箇所	560,000	陰性							
2	サニタリールーム	手洗いシンク水道栓	1,200,000	陽性							
3	サニタリールーム	足洗槽内	37,000	陰性		130	陰性			10	陰性
4	サニタリールーム	エアシャワー取手	5,700,000	陽性		22,000				750,000	陰性
5	風除室	床	790,000	陽性	190	陰性	7,200	陰性	510,000	3,100,000	陰性
6	風除室	壁	40,000	陰性	20	陰性					
7	風除室	木パレット	43,000	陰性					17,000		陰性
8	風除室	原料冷蔵庫 床	1,100,000	陽性	1,300,000	陰性	6,100	陰性	850,000		陰性
9	風除室	原料冷蔵庫 壁	610	陰性							
10	風除室	ビニールカーテン	37,000	陰性					4,300		陰性
11	風除室	ダンボール (原料白菜入)	6,500	陰性					120,000		陰性
12	一次処理室	主な板 (作業中)	270,000	陽性	1,800	陰性	610	陰性	350,000	110,000	陰性
13	一次処理室	包丁	150,000	陽性			6,900	陰性	110,000	46,000	陰性
14	一次処理室	青コンテナ (原料キャベツ外葉廃棄用)	480,000	陽性	11,000	陰性	18,000	陰性	14,000	320,000	陰性
15	一次処理室	ジャンボボックス (青)									
16	一次処理室	漬け込み樽 (洗浄用、オレンジ丸)	250,000	陰性							
17	一次処理室	漬け込み樽 (洗浄用、青角大)	210,000	陰性							
18	一次処理室	スライサー (大) (ベルト、緑)	34,000	陰性							
19	一次処理室	スライサー (大) (引き上げベルト、ステンメッシュ)	10	陰性							
20	一次処理室	パレット	5,000,000	陽性	35,000	陰性	4,800,000	陰性	1,700,000	50,000	陰性
21	一次処理室	キャスター持ち手	340,000	陰性							
22	一次処理室	床 (1)	4,500,000	陽性	2,600	陰性	6,000	陰性	2,900,000	2,300,000	陽性
23	一次処理室	床 (2)			78,000	陰性					
24	一次処理室	壁 (1)	200	陰性	0	陰性					
25	一次処理室	壁 (2)			0	陰性					
26	一次処理室	器具 (ピーラー)	380,000	陰性					10,000	90	陰性
27	一次処理室	器具 (スライサー刃)	260,000	陰性					130,000		陰性
28	一次処理室	スライサー (小) (ベルト、緑)	620,000	陰性					290,000	130,000	陰性
29	一次処理室	重石	830,000	陽性	6,100	陰性	9,800	陰性	47,000	2,100	陰性
30	熟成室	熟成庫入口 引戸	13,000	陰性							
31	熟成室	漬け込み樽 (オレンジ)	320,000	陽性	6,400	陰性	12,000	陰性	380,000	11,000	陰性
32	熟成室	重石	45,000	陰性					13,000		陰性
33	熟成室	床	750,000	陽性	96,000	陰性	1,200,000	陰性	1,700,000	1,000,000	陽性
34	熟成室	壁	310	陰性	0	陰性					

35	熟成室	ハレット	3,400,000	陽性	2,900	陰性	59,000	陰性	860,000	陰性	150,000	陰性
36	充填・包装室	作業台1	410,000	陽性	2,900	陰性	38,000	陰性	1,000,000	陰性	12,000	陰性
37	充填・包装室	作業台2	48,000	陰性								
38	充填・包装室	作業台3	44,000	陰性								
39	充填・包装室	シンク内部		陰性					2,100	陰性		
40	充填・包装室	ジャンボボックス(青、白菜入り)	370,000	陰性								
41	充填・包装室	洗浄器具 (青、角ザル)	51,000	陰性								
42	充填・包装室	洗浄器具 (青、丸ザル(大))	120,000	陰性			2,600	陰性	270,000	陰性		
43	充填・包装室	洗浄器具 (青樽)	180,000	陽性					310,000	陰性		
44	充填・包装室	洗浄器具 (青コンテナ)	5,400	陰性					190,000	陰性	13,000	陰性
45	充填・包装室	洗浄器具(ハッカン)		陰性	200	陰性						
46	充填・包装室	ふきん (作業台、作業中)	250,000	陰性								
47	充填・包装室	作業者 手指<1> (キム子作業中)	110,000	陰性								
48	充填・包装室	作業者 手指<2> (大相はさみ漬、作業中)	17,000	陰性								
49	充填・包装室	作業者 手指<3> (カップ話、作業中)	6,700	陰性								
50	充填・包装室	手洗いシンク水道栓	740,000	陰性	3,400	陰性						
51	充填・包装室	青コンテナ (白菜入)	350,000	陰性								
52	充填・包装室	青丸ザル(小)	110,000	陰性								
53	充填・包装室	青丸ザル(小) (鮭入)	12,000	陰性								
54	充填・包装室	ステンポール(小)	3,800	陽性	12,000	陰性	330	陰性	140,000	陰性		
55	充填・包装室	黄樽(小) (人参入)	110,000	陰性								
56	充填・包装室	床<1>	3,600,000	陽性	10,000	陰性	48,000	陰性	1,100,000	陰性	2,200,000	陰性
57	充填・包装室	床<2>	4,600,000	陽性	2,600	陰性	43,000	陰性	1,400,000	陰性	800,000	陰性
58	充填・包装室	床<3>	1,200,000	陽性	35,000	陰性	1,800,000	陰性	1,100,000	陰性	1,300,000	陰性
59	充填・包装室	樽ふた (木製)	580,000	陽性			-					
60	充填・包装室	手な板	120,000	陽性			6,700	陰性				
61	充填・包装室	壁	36,000	陰性	0	陰性						
62	出荷・風除室	壁	0	陰性								
63	出荷・風除室	床<1>	2,900,000	陽性			2,500	陰性	1,800,000	陰性	370	陰性
64	出荷・風除室	床<2>	5,400,000	陽性			3,600	陰性			310	陰性
65	出荷・風除室	機械上部カバー		陰性	130	陰性						
66	出荷・風除室	機械脱気部分		陰性	10,000	陰性						
67	出荷・風除室	ビニールカーテン	80	陰性								

備考

その他、サルモネラ属菌、E.coli、EHEC0157 陰性
その他、サルモネラ属菌、E.coli、EHEC0157 陰性
その他、サルモネラ属菌、E.coli、EHEC0157 陰性
その他、E.coli 陰性

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進 研究事業）

果実・野菜・漬物等における食中毒菌の衛生管理に関する研究

分担研究報告書－2

（身欠きニシン製造工程における衛生調査）

小班総括者：牧野壮一（国立大学法人帯広畜産大学・理事・副学長）

研究協力者：木村 稔（北海道立中央水産試験場・加工利用部品質保全科長），

三上 加奈子（同・研究職員），阪本 正博（同・主任研究員），大堀 忠志（同・加工利用部長），

武士甲一（国立大学法人帯広畜産大学・畜産学部・教授）

研究要旨

北海道の代表的な漬物製品であるニシン漬け製品において、原料となる身欠きニシン製造工程での食中毒菌に対する危害分析を行った。その結果、冷凍ニシン原料、最終製品および各工程での拭き取り検査から大腸菌、腸管出血性大腸菌 O157、サルモネラ属菌、*Listeria monocytogenes* は検出されなかった。しかし、中間工程で仕上がる八分乾製品の一部に *L.monocytogenes* が検出された。

原料にはアラスカ産冷凍抱卵ニシンを使用し、一般生菌数が 300 以下/g と低く問題はなかったが、八分乾製品では一般生菌数、大腸菌群ともに 10^6 cfu/g まで急増した。乾燥温度は 18℃で、ニシンの水分活性が 0.95 と高く菌数が増加したと考えられた。一方、最終製品となる本乾では、水分が 11%、水分活性が 0.742 と低く、大腸菌群も 10^4 cfu/g と急激に減少し、*L.monocytogenes* を含む食中毒菌も全く検出されず問題はなかった。

拭き取り検査では、作業前に洗浄した器具類や床は菌数が少なく衛生的であったが、作業中は器具類や床の一般生菌数の増加や大腸菌群も多く検出された。一部の作業員は汚れた軍手を使用しており、そこから器具類へ汚染したと考えられた。また、長靴は工場の内外兼用であることから、長靴を介して床への汚染があったと考えられた。これらからの交差汚染により、中間製品あるいは最終製品が汚染を受ける可能性があるため、一般的衛生管理事項の再点検と徹底した洗浄・殺菌を行い、定期的な細菌検査によって常に衛生状態を確認する必要がある。なお、拭き取り検査において、食中毒菌は検出されず、*L.monocytogenes* は、作業員による軍手の汚れ具合の差、乾燥中の送風や温度によって本菌が付着・増加したと考えられるが、詳細は不明であり今後の検討課題である。

市販ニシン漬け製品の身欠きニシン検査結果では、10 検体の平均値で一般生菌数が 7.7×10^6 cfu/g、大腸菌群が 9.9×10^3 cfu/g と本乾製品とほぼ同じ値であり、大腸菌や食中毒菌はすべて陰性で問題はなかった。また、理化学的性状検査では、水分 51.8%、水分活性 0.948、塩分 1.5%、pH 6.6 であった。この製品は製造 2 日で漬け込みが完了することから、pH がやや高く浅漬け風のニシン漬けであった。食味試験では、甘さが強く酸味が弱く感じられ、調味液の影響が考えられた。

A. 研究目的

水産物を利用した漬け物において、原料となる身欠きニシン製造工程での微生物汚染状況調査を行い、安全で衛生的な食品製造を行うための科学的根拠となるデータを得る。

B. 研究方法

1. 調査期間及び調査施設

本調査は、平成 19 年 10 月から平成 19 年 11 月にかけて実施した。調査施設は北海道後志管内にあり、身欠きニシンをはじめカズノコ製品等を製造している。

2. 調査試料

(1) 原材料

原料はアラスカ産（2007 年 5 月製造）の冷凍ニシンを用いた。このニシンは平均体重が約 300g と比較的大きなサイズの雌雄混合品である。解凍・腹出し後の卵は塩カズノコや味付けカズノコとして製造され、血抜きしたニシンは身欠きニシンとして加工される。

(2) 製造工程

凍結状態の「原料」、加温した水道水で解凍した「解凍」、腹だし、塩水浸漬による「血抜き」、乾燥中の「1 日目」、「2 日目」、「3 日目」及び「八分乾製品」について調査した。八分乾よりも乾燥度を高めた身欠きニシンは、ロシア産の小型ニシンを使用し、一般消費者向け漬け物用として販売されており、これを「本乾製品」とした。

(3) 製造環境

解凍用・洗浄用タンク、作業エリアの床、作業員手袋、運搬台車、水切り用ザル等を環境試料とした。また、冷凍ニシンの解凍中の品温や作業エリアの環境温度を測定した。

(4) 漬け物製品検査

北海道後志管内の漬け物製造会社の市販ニシン漬け製品を購入し、細菌検査と理化学試験を実施した。

(5) 細菌検査および理化学試験

ニシンは、1～3匹を 1 区分とし工程毎に 3 区分を検査した。前処理として工程毎のニ

シンをハサミで切断した後、オースターブレンダーで細かく裁断し、これを試料とした。各試料について、細菌検査では、一般生菌数、大腸菌群、大腸菌(*Escherichia coli*)、腸管出血性大腸菌 O157、サルモネラ属菌、リステリア菌(*Listeria monocytogenes*)について調べ、理化学検査では、水分、塩分、pH、水分活性を測定した。また、製造環境の拭き取り試料については、滅菌ブースを用いて約 10×10 cm を拭き取り（ふきふきチェック II、栄研器材㈱）、これを添付の緩衝液に浮遊させて均一な試料液とした。

一般及び大腸菌群検査：試料 25 g に滅菌リン酸緩衝液 225ml を加え 10 倍乳剤を調製した。

10%乳剤を適宜希釈し、標準寒天培地(日水製薬)による混釈培養から一般生菌数を、Coliform ECC 培地(クロモアガー社、推定試験)による混釈培養から大腸菌群を推定した。また、拭き取り試料の検液は、適宜希釈し同様に検査した。

大腸菌検査：EC 培地(日水製薬)発酵管各 3 本に上記 10%乳剤を 1ml ずつ加え 44.5℃にて 24±2 時間培養した。ガス発生試験管の培養液をクロモアガーE.coli 寒天培地(クロモアガー社)に塗抹し、44.5℃にて 24±2 時間培養した。青色の定型的集落が出た場合、確認試験を行った。また、拭き取り試料は各検液 1ml を発酵管 1 本にそれぞれ加え同様に検査した。

O157 検査：試料 25 g にノボピオシン加 mEC 培地(栄研化学)225ml を加え 42℃18～24 時間培養した。これを O157TAM 培地(クロモアガー社)に塗抹し 35℃18～24 時間培養した。藤色の定型的集落が出た場合、確認試験を行った。また、拭き取り試料は各検液 1ml をノボピオシン加 mEC 培地 9ml にそれぞれ加え同様に検査した。

サルモネラ属菌：試料 25 g に緩衝ペプトン水(栄研化学)225ml を加え 35℃18±2 時間培養した。培養液 1ml を RV 培地(日水製

薬)15mlに接種し、43℃18時間培養した。これを DHL 寒天培地(日水製薬)に塗抹し 35℃24±2 時間培養した。黒色の定型的集落が出た場合、確認試験を行った。また、拭き取り試料は各検液 1ml を緩衝ペプトン水 9ml にそれぞれ加え同様に検査した。

リステリア菌：試料 25 g にハーフフレーザー培地(オキソイド社)225ml を加え 30℃24 時間培養した。培養液 0.1ml をフレーザー培地(オキソイド社)10ml に接種し 35℃18 時間培養した。これをクロモアガーリステリア寒天培地(クロモアガー社)に塗抹し、37℃24～48 時間培養した。水色ハローの定型的集落について確認試験を行った。また、拭き取り試料は各検液 1ml をハーフフレーザー培地 9ml にそれぞれ加え同様に検査した。

なお、分離培養時に疑陽性の食中毒菌が検出された場合は、必要に応じて帯広畜産大学に培養株を送付した。

理化学試験：pH 及び塩分は、細菌検査で用いた各試料を用い、これを蒸留水で 10 倍乳剤を調製して測定した。すなわち、pH はガラス電極法、塩分は N/10 硝酸銀溶液を用いた滴定法により測定した。なお、水分活性については残りのニシンから背肉の内部を切り出し、コンウェイユニット法により測定した。

(倫理面への配慮)

当該施設名、従業員名、製品に関する情報を匿名とした。

C.研究結果

(1)ニシンの解凍温度と環境温度

冷凍ニシンの解凍中の品温変化を図 1 に示した。ニシンの品温は、前日に予備解凍を行っていたため、-6℃～-3℃であった。解凍中は、加温とバブリングを行っており、急速に解凍が進み 2 時間程度で 9℃まで上昇した。解凍後は、静置状態で翌日まで保管したが、品温の上昇はなかった。ニシンの品

温が 10℃以下に保たれていたことから、タンクからの汚染が無い限り、衛生的であると考えられた。作業場および乾燥室の室温変化を図 2 に示した。図の 0 (h) は午後 0 時を示して

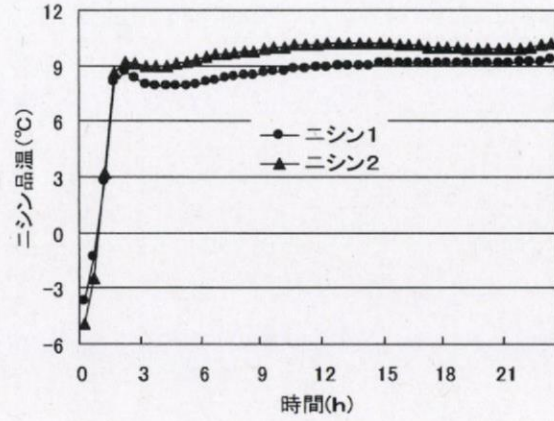


図 1 解凍中のニシン品温変化

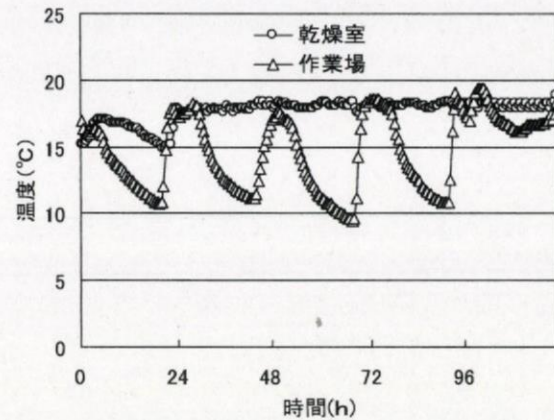


図 2 作業環境温度の変化

おり、作業場では午後から翌日朝まで室温が 18 から 10℃まで低下し、作業開始の 8 時頃から室温が急激に上昇した。このように作業場の室温は一定の周期で変化したが、図 1 に示した解凍後のニシン品温には影響しなかった。一方、乾燥室は乾燥温度が 18℃とほぼ一定であった。

(2) 原材料, 中間製品, 最終製品

図 3 に身欠きニシン製造工程の概略を示した。冷凍ニシンは、前述したとおり水を入れたタンク内でバブリングと加熱により急

速解凍した後、翌日まで静置した。解凍したニシンを腹出し作業でカズノコや精巣などの内臓を分離した。この腹出しニシンを3%程度の塩水で血抜きを約1時間行った後、エラから金属棒を通し、乾燥台に10数匹ずつ吊して、乾燥機に入れた。ニシンを数時間乾燥した後、2枚

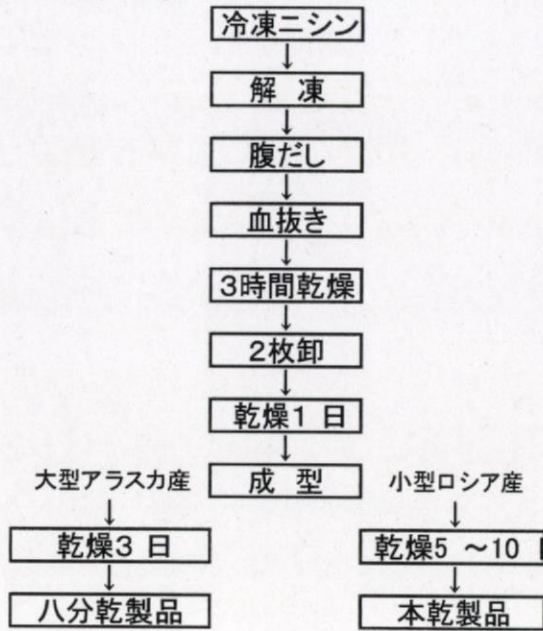
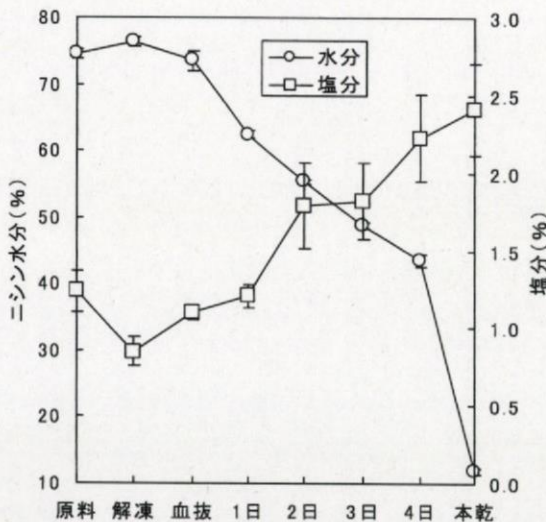


図3 身欠きニシンの製造工程

に卸して再び金属棒を通し乾燥した。翌日、乾燥1日目終了したニシンを作業台上で、ハサミで成型し、再度金属棒や木棒に吊して更に3日間乾燥(トータル4日間)した。この



とき、作業台の上にはニシンの脂で汚れないように紙を敷いて作業が行われた。出来上がった製品は、一般的に「八分乾」と呼ばれ、乾燥度合いが弱いため冷蔵保管されている。

八分乾製品は、主に東北地方を中心に、山菜との煮付用に出荷されているが、漬物工場で使用される場合もある。一方、一般消費者向け漬物用の身欠きニシンは、主に小型のロシア産から製造されている。工程は前述と同じであるが、成形後の乾燥を充分に行うことから「本乾」と呼ばれている。

図4に各工程中のニシンにおける、水分、塩分、pH及び水分活性の変化を示した。水分は、原料が75%であり解凍中にやや増加したが、乾燥中はほぼ一定の割合で減少した。4日の八分乾製品は45%と比較的高いが、本乾製品では11%まで減少していた。塩分は原料が1.3%であり、水分と逆に乾燥中増加し、本乾製品で2.5%まで増加した。水分活性は原料が0.972であり、血抜きまで増加し、乾燥中は2日目に0.950まで減少し、4日目まで変化がなかった。これは、測定部位を背肉内部としたため、表面に比較して乾燥が進まなかったと考えられた。一方、本乾製品では、背肉内部もしっかり乾燥しており、水分活性も0.742まで低下していた。なお、pHは変化がなく加工工程中6.8で推移した。

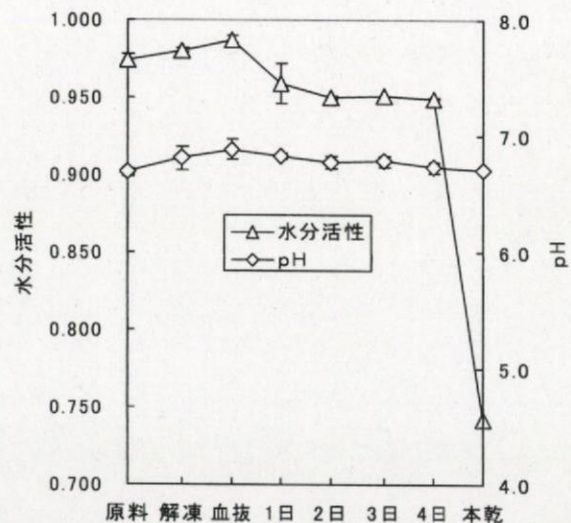


図4 加工工程中のニシンの理化学的性状調査結果

表1 加工工程中におけるニシン細菌検査の結果

n=3	一般生菌数 CFU/g	大腸菌群 CFU/g	大腸菌	o157	サルモネラ属属	<i>L.monocytogenes</i>
冷凍原料	300以下	300以下	---	---	---	---
解凍後	300以下	300以下	---	---	---	---
血抜き後	3.3×10^3	300以下	---	---	---	---
乾燥1日	2.1×10^3	300以下	---	---	---	---
乾燥2日	2.9×10^5	9.0×10^4	---	---	---	---
乾燥3日	2.8×10^6	1.1×10^6	---	---	---	---
乾燥4日 八分乾製品	8.0×10^6	2.2×10^6	---	---	---	---+
本乾	1.1×10^7	2.8×10^4	---	---	---	---

表1に各工程中のニシンについて、一般生菌数と大腸菌群の変化、大腸菌および食中毒菌の検査結果を示した。冷凍原料および解凍後は、一般生菌数、大腸菌群ともに300以下/gと非常に衛生的であった。血抜き後から乾燥1日目まで一般生菌数が 10^3 cfu/gと低く、大腸菌群も300以下/gと衛生的であった。しかし、乾燥2日目では一般生菌数が 10^5 cfu/g、大腸菌群も 10^4 cfu/gと急激に菌数が増加し、八分乾製品で一般生菌数は 10^6 cfu/g、大腸菌群も 10^5 cfu/gとなった。この要因として乾燥室の温度が18℃と高いため、菌数が急激に増加したものと考えられた。一方、本乾製品では一般生菌数はやや増加したが、大腸菌群は急激に減少した。乾燥が進んで水分活性が急激に低くなり大腸菌群の多くが死滅したものと考えられた。なお、全ての工程において、ニシンから大腸菌は検出されなかった。

食中毒菌の検査では、O157とサルモネラ属菌は検出されなかったが、乾燥4日目の八分乾製品5検体中の1検体に*L.monocytogenes*が確認された。*L.monocytogenes*は増殖限界の最低水分活性が0.92と比較的乾燥に強い菌であり、乾燥4日目までは水分活性が0.95と高く(図4)、本菌が付着し増殖した可能性がある。一方、

本乾製品では水分活性が0.742と低く、本菌も検出されなかった。

(2) 製造環境の温度と拭き取り試験

図5に加工工程中の拭き取り検査の結果を

示した。作業前の洗浄した器具類は、一般生菌数が $10^2 \sim 10^4$ cfu/100cm²と低く大腸菌群も検出されず衛生的であった。

作業中は、ほとんどの器具類で一般生菌数が増加し、特にザルと包丁で著しかった。さらに、作業前には検出されなかった大腸菌群が検出され、作業床と作業員2の軍手に多かった。作業床は、工場入り口に足洗い場があったが、外用と工場用で区別しておらず、長靴を介して外からの雑菌が混入したと考えられた。また、作業員1は使い捨て滅菌手袋を、作業員2は汚れた軍手を使用しており、この差が菌数に大きく影響したと考えられた。作業員用の踏み板も一般生菌と大腸菌群が多く、長靴による汚染と考えられた。このため、軍手や踏み板は毎日消毒や殺菌を行い、長靴は外と中で履きかえることが重要と考えられた。ニシンの成型や乾燥中の拭き取り検査では、大腸菌群も検出されず、特に問題はなかった。食中毒菌については、全ての拭き取り検査で検出されなかった。

(3)市販製品の検査結果

市販のニンジン漬け製品 10 検体の身欠きニンジンについて、細菌検査および理化学試験を行った。その結果を表 2、3 に示した。製造前の身欠きニシンの一般生菌数は 7.7×10^7 cfu/g、大腸菌群が 9.9×10^3 cfu/g であり、製品でもそれぞれ $10^6 \sim 10^7$ cfu/g、 $10^3 \sim 10^5$ cfu/g と特に大きな変化はなかった。また、大腸菌や食中毒菌については全て陰性であった。

理化学的性状検査では、水分 51.8%、水分活性 0.946、塩分 1.5%、pH6.6 であり、図 4 に示す 4 日（八分乾製品）と比較して、水分がやや高く塩分がやや低くなっていた。pH は 6.6 と比較的高いが、これは製造直後で熟成が進んでいなかったためと考えられた。また、身欠きニシンは水戻しと調味液などにより吸水し柔らかくなっていたが、水分活性は八分乾製品と変わらなかった。食味試験では、甘さが強く酸味が感じられ、調味液の影響を考慮された。

D.考察

L.monocytogenes は比較的乾燥に強く、低温でも増殖することが知られている。近年、浅漬け風の漬け物が増加しており、熟成によって乳酸菌の増加と pH 低下が進まない場合は、危害の対象となる可能性がある。このため、本菌による添加試験などを行い、増殖の有無を調べることも重要な課題である。

身欠きニンジン加工現場では、カズノコ製造も行う加工場が大半である。衛生管理については、カズノコ製造では進んでいるが、身欠きニシンの製造時は乾物ということもあり遅れている状況である。特に加工場内では、出入り口に洗い場を設けていたが、外部と内部で長靴を換える取り組みが必要と考えられた。また、床は常にウェットであるため跳ね返りを想定した運搬台車や作業台の高さの調整などの工夫や、使用する軍手の殺菌消毒や定期的な手指のアルコール洗浄も重要

と考えられた。

本調査の結果から、乾燥工程で菌数が急激に増加することが明らかとなった。このため、上記した衛生管理を行い、特に乾燥工程以前に食中毒菌の汚染が無いよう注意する必要があると考えられた。

E.結論

身欠きニンジン製造施設において、原材料から最終製品に至る過程で食中毒菌に対する危害分析を行った。乾燥 4 日目八分乾製品の 1 検体から *Listeria.monocytogenes* が検出された。拭き取り検査で本菌が検出されなかったため、今後その汚染経路の解明と防止法の検討が重要である。

また、作業員軍手や作業エリア床で一般生菌数が高く、大腸菌群も検出され、一般的衛生管理事項の再点検と改善および定期的に細菌検査を実施して、常に汚染状況を把握する必要があると考えられた。

F.健康危険情報

該当なし。

G.研究発表

1. 論文発表
該当なし
2. 学会発表
該当なし

H.知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

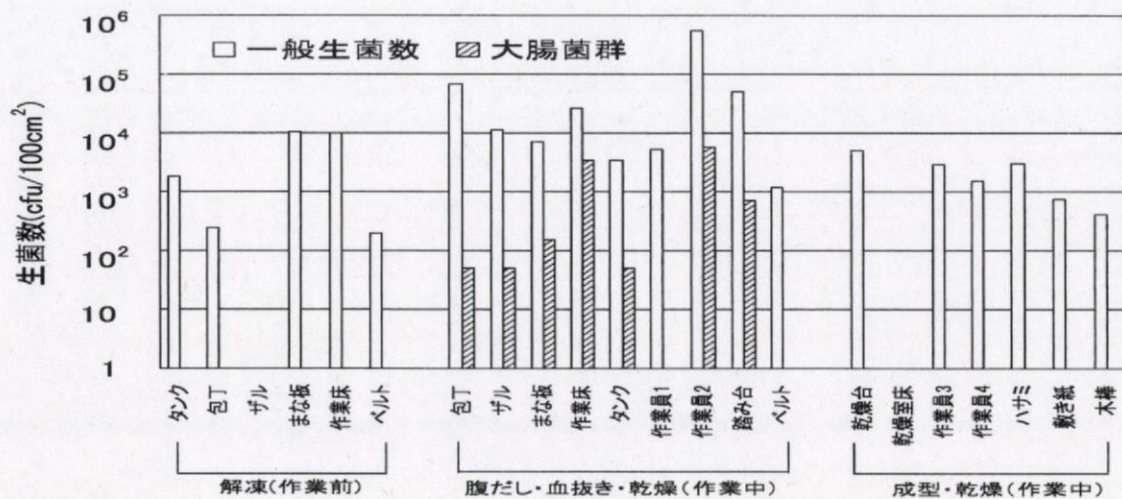


図5 加工工程中の拭き取り検査の結果

表2 ニシン漬け製品の微生物検査結果

ニシン漬け製品 (身欠きニシン)	一般生菌 数(cfu/g)	大腸菌群 (cfu/g)	大腸菌	o157	サルモネラ属菌	<i>L.monocytogenes</i>
No.1	5.5×10^6	1.4×10^3	—	—	—	—
No.2	7.4×10^6	1.5×10^5	—	—	—	—
No.3	1.4×10^7	1.2×10^4	—	—	—	—
No.4	5.4×10^6	2.0×10^5	—	—	—	—
No.5	6.5×10^6	1.1×10^5	—	—	—	—
No.6	1.2×10^7	1.7×10^4	—	—	—	—
No.7	7.7×10^6	7.7×10^3	—	—	—	—
No.8	6.5×10^6	1.0×10^4	—	—	—	—
No.9	3.8×10^6	2.8×10^5	—	—	—	—
No.10	3.6×10^6	1.6×10^4	—	—	—	—

表3 ニシン漬け製品の理化学的性状変化

ニシン漬け製品 (身欠きニシン)	水分 (%)	塩分 (%)	水分活性	pH
No.1	53.5	1.5	0.951	6.55
No.2	53.6	1.5	0.941	6.54
No.3	53.4	1.5	0.943	6.57
No.4	51.0	1.5	0.941	6.52
No.5	53.2	1.4	0.943	6.55
No.6	49.4	1.4	0.949	6.56
No.7	51.7	1.5	0.945	6.59
No.8	51.6	1.5	0.951	6.59
No.9	49.9	1.4	0.951	6.61
No.10	51.0	1.4	0.948	6.63
平均値	51.8	1.5	0.946	6.57
sd	1.53	0.05	0.00	0.03

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進 研究事業）

果実・野菜・漬物等における食中毒菌の衛生管理に関する研究

分担研究報告書－3

（ニンジン漬け物の製造工程における衛生調査）

小班総括者：牧野壯一（国立大学法人帯広畜産大学・理事・副学長）

研究協力者：木村 稔（北海道立中央水産試験場・加工利用部品質保全科長），
三上 加奈子（同・研究職員），阪本 正博（同・主任研究員），大堀 忠志（同・加工利用部長），
武士甲一（国立大学法人帯広畜産大学・畜産学部・教授）

研究要旨

北海道の代表的な漬物製品である「ニンジン漬け」において、製造工程での食中毒菌に対する危害分析を行った。その結果、各工程での拭き取り検査から大腸菌、腸管出血性大腸菌 O157、サルモネラ属菌、*Listeria monocytogenes* は検出されなかった。しかし、原料として使用した身欠きニンジンから *L. monocytogenes* が検出され、さらに漬け物製品 10 検体すべてが *L. monocytogenes* 陽性と判定された。

冷凍原料の身欠きニジンは、一般生菌数が $3.4\sim 6.1\times 10^7$ cfu/g、大腸菌群が $1.8\sim 2.9\times 10^7$ cfu/g と非常に高く、水戻し後に殺菌剤で処理しても菌数は減少せず、製品中の身欠きニンジンもほぼ同様の菌数であった。このように冷凍原料段階での菌数が高く、さらに検査した全ての身欠きニンジンに *L. monocytogenes* が検出されており、身欠きニンジン製造時の衛生環境に問題があったと推察された。また、漬け物製品中の身欠きニジンは、水分活性 0.963、pH6.7 と *L. monocytogenes* が増殖可能な値であり、保管温度には十分注意が必要と考えられた。なお、使用した身欠きニジンの製造業者は特定されなかったことから、購入原料の履歴を明らかにすることも重要である。

副原料の野菜類については、カット前のダイコンとキャベツで、一般生菌数 $10^6\sim 10^7$ cfu/g、大腸菌群 $1.0\sim 1.8\times 10^4$ cfu/g と非常に高かったが、カット後の野菜類は一般生菌数 $1.2\sim 5.3\times 10^3$ cfu/g、大腸菌群 300cfu/g 以下と低くなった。これは、カット時に野菜類の皮や泥の付いた部分を除去したことやオゾン水による洗浄効果であることが明らかとなった。また、カットしたニンジンから *L. monocytogenes* が検出されたが、これは身欠きニンジンとの接触が原因と考えられた。以上のように、カット後の野菜へ泥や食中毒菌が汚染しないためには、作業手順の遵守が重要と思われた。

作業環境調査において、作業 1 日目のテーブルや作業員手指などは、一般生菌数が 10^4 レベルで大腸菌群が 300cfu/100cm² 以下と低かった。また、作業 2 日目の作業員手指で大腸菌群がやや増加したが、これは手指と接触したザル等などの汚染と考えられた。なお、作業室温は 18℃以下、漬け込み室温は 10℃以下と低く、大きな問題はなかった。調査の結果、当該工場の衛生管理は、概ね良好であったが、一般的衛生管理事項の再点検と改善および定期的に身欠きニジンの細菌検査を実施するなど、常に汚染状況を把握することが重要と考えられた。

A. 研究目的

本調査では、北海道の代表的な「ニンジン漬け」において、製造工程での微生物汚染状況調査を行い、安全で衛生的な食品製造を行うための科学的根拠となるデータを得る。

B. 研究方法

1. 調査期間及び調査施設

本調査は、平成20年10月から12月にかけて実施した。調査施設は北海道後志管内にあり、漬け物製品をはじめ各種総菜等を製造している。

2. 調査試料

(1) 原料

身欠きニシンは、問屋から間接的に購入されたものであり、製造業者の特定はできなかった。また、当該工場では、本乾製品より水分量の高い八分乾製品を漬け物に使用していた。

ニンジン漬け製造に欠かせない身欠きニシンの「冷凍原料」や、水戻し後に殺菌剤処理した「殺菌後」について、また、副原料であるが漬け物の大半を占めるダイコンやキャベツなどの「カット前」と「カット後」について調査した。

(2) 製造環境

漬け物製造中における、作業用テーブル、包丁、まな板、洗浄用タンク、作業室の床、作業員手袋、水切り用ザル等を環境試料とした。また、作業室、漬け込み室の環境温度を測定した。

(3) 漬け物製品検査

本調査時に製造された製品10個について、製品から身欠きニシンを取り出し、細菌検査と理化学試験を実施した。

(4) 細菌検査および理化学試験

一口サイズにカットされた身欠きニシン5~6個を1区分とし工程毎に3区分を検査した。前処理として工程毎のニシンをハサミで切断した後、オースターブレンダーで細かく裁断し、これを試料とした。各試料について、細菌検査では、一般生菌数、大腸菌群、大腸菌 (*Escherichia coli*)、腸管出血性大腸菌 O157、サルモネラ属菌、リステリア菌 (*Listeria*

monocytogenes) について調べ、理化学検査では、水分、塩分、pH、水分活性を測定した。副原料の野菜類については細菌検査を行った。また、製造環境の拭き取り試料については、滅菌ブースを用いて約10×10cmを拭き取り(ふきふきチェックII, 栄研器材株), これを添付の緩衝液に浮遊させて均一な試料液とした。

一般及び大腸菌群: 試料25gに滅菌リン酸緩衝液225mlを加え10倍乳剤を調製した。10%乳剤を適宜希釈し、標準寒天培地(日水製薬)による混釈培養から一般生菌数を、Coliform ECC培地(クロモアガー社, 推定試験)による混釈培養から大腸菌群を推定した。また、拭き取り試料の検液は、適宜希釈し同様に検査した。

大腸菌: EC培地(日水製薬)発酵管各3本に上記10%乳剤を1mlずつ加え44.5℃にて24±2時間培養した。ガス発生試験管の培養液をクロモアガー-E.coli寒天培地(クロモアガー社)に塗抹し、44.5℃にて24±2時間培養した。青色の定型的集落が出た場合、確認試験を行った。また、拭き取り試料は各検液1mlを発酵管1本にそれぞれ加え同様に検査した。

O157: 試料25gにノボビオシン加mEC培地(栄研化学)225mlを加え42℃18~24時間培養した。これをO157TAM培地(クロモアガー社)に塗抹し35℃18~24時間培養した。藤色の定型的集落が出た場合、確認試験を行った。また、拭き取り試料は各検液1mlをノボビオシン加mEC培地9mlにそれぞれ加え同様に検査した。

サルモネラ: 試料25gに緩衝ペプトン水(栄研化学)225mlを加え35℃18±2時間培養した。培養液1mlをRV培地(日水製薬)15mlに接種し、43℃18時間培養した。これをDHL寒天培地(日水製薬)に塗抹し35℃24±2時間培養した。黒色の定型的集落が出た場合、確認試験を行った。また、拭き取り試料は各検液1mlを緩衝ペプトン水9mlにそれぞれ加え同様に検査した。

リステリア菌: 試料25gにハーフフレーザー培地(オキソイド社)225mlを加え30℃24時

間培養した。培養液 0.1ml をフレーザ培地 (オキソイド社)10ml に接種し 35°C18 時間培養した。これをクロモアガーリステリア寒天培地 (クロモアガー社)に塗抹し、37°C24~48 時間培養した。水色ハローの定型的集落について確認試験を行った。また、拭き取り試料は各検液 1ml をハーフフレーザ培地 9ml にそれぞれ加え同様に検査した。

なお、分離培養時に疑陽性の食中毒菌が検出された場合は、イムノクロマト法にて確認検査を行い、必要に応じて帯広畜産大学に培養株を送付した。

理化学試験：pH 及び塩分は、細菌検査で用いた各試料を用い、これを蒸留水で 10 倍乳剤を調製して測定した。すなわち、pH はガラス電極法、塩分は N/10 硝酸銀溶液を用いた滴定法により測定した。なお、水分活性については残りのニシンから背肉の内部を切り出し、コンウェイユニット法により測定した。

C. 研究結果

(1) 製造工程

図 1 にニシン漬けの製造工程を示した。主原料となる冷凍身欠きニシンは、半解凍時に一口サイズに裁断後、冷蔵庫内で一晩水戻しされた。翌日、これを水切りした後、混合前に市販のアルコール系殺菌剤で 10 分程度処理された。一方、副原料の野菜類は、皮むき後にオゾン水で洗浄され、カットした後に漬け込み室で一晩塩漬けが行われた。翌日、これを液切り後、処

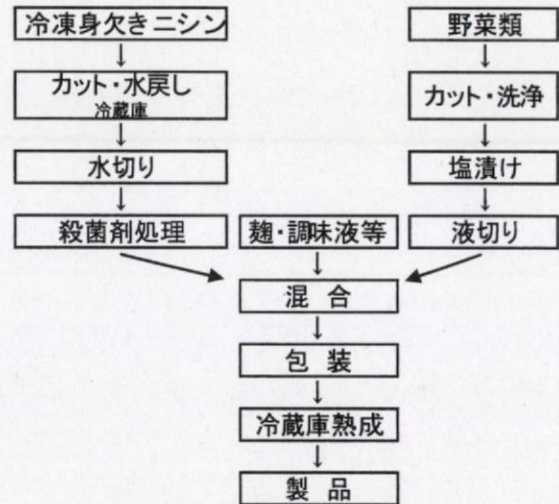


図1 ニシン漬けの製造工程

理した身欠きニシン、麺、調味料と混合し、500g 及び 1kg に袋詰めされた。段ボールで梱包後 5°Cの冷蔵庫で 1 晩保管熟成し製品となった。なお、製品の消費期限は、袋詰め後から 10 日間であり、保管期間が長いほど熟成が進み、やや酸味が増した。

(2) 作業環境温度

作業中における作業室温と漬け込み室温の変化を図 2 に示した。作業室温は作業中の日中

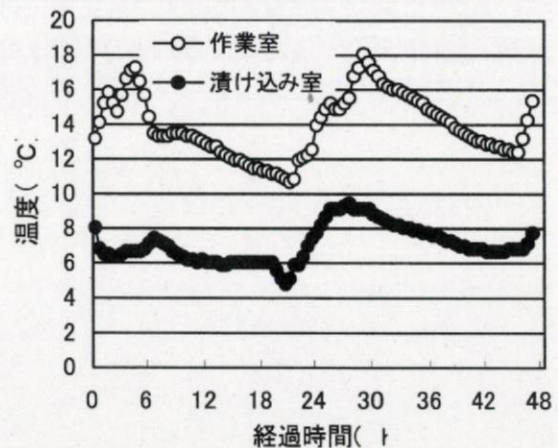


図2 作業環境温度の変化

に高くなり最大 18°Cとなった。一方、漬け込み室温は、10°C以下と低く平均で約 7°Cであった。実際の作業工程において、野菜類は 8 時間以内で作業室での処理が終了し、その後漬け込み室に移動するため、10°C以下の貯蔵となる。さらに、翌日の混合作業以降も全て漬け込み室で行われるため、処理された野菜類の品温はか

なり低いと考えられた。

(3) 拭き取り検査の結果

図3に作業中の拭き取り検査結果を示した。作業1日目のテーブル、まな板、包丁、作業員手指は、一般生菌数が 10^4 レベルで大腸菌群が $300\text{cfu}/100\text{cm}^2$ 以下と概ね良好であった。作業床や長靴についても、同様に良好であり、特に、

漬け込み用に使用するタンク等は、非常に衛生的であった。作業2日目の作業員手指は、一般生菌数で 10^4 以下と低かったが、大腸菌群がやや高かった。これは、一時処理の終了した野菜類の混合作業中に検査を行っており、接触したザル等などから汚染されたものと考えられた。

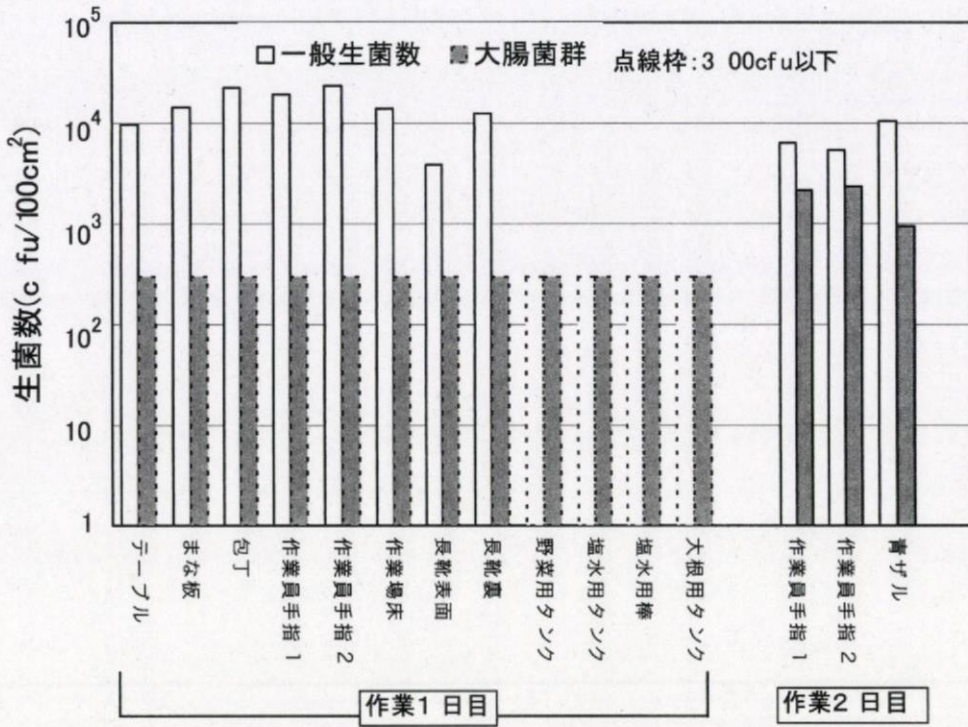


図3 作業中における拭き取り検査の結果

表1 加工工程中における身欠きニシンの細菌検査結果

n=1~3	一般生菌数 CFU/g	大腸菌群 CFU/g	大腸菌	O157	サルモネラ属菌	<i>L.monocytogenes</i>
冷凍原料1	6.1×10^7	2.9×10^7	-	-	-	+
冷凍原料2	5.6×10^7	2.9×10^7	-	-	-	+
冷凍原料3	3.4×10^7	1.8×10^7	-	-	-	+
水戻し後	5.6×10^7	3.2×10^7	-	-	-	+
殺菌剤処理後1	6.4×10^7	3.2×10^7	-	-	-	+
殺菌剤処理後2	8.2×10^7	3.7×10^7	-	-	-	+
殺菌剤処理後3	7.0×10^7	4.0×10^7	-	-	-	+

表2 加工工程中における副原料の細菌検査結果

カット前	一般生菌数 CFU/g	大腸菌群 CFU/g	大腸菌	O157	サルモネラ属菌	<i>L.monocytogenes</i>
キャベツ	2.0×10^7	1.0×10^4	-	-	-	-
ダイコン	4.6×10^6	1.8×10^4	-	-	-	-
カット後	一般生菌数 CFU/g	大腸菌群 CFU/g	大腸菌	O157	サルモネラ属菌	<i>L.monocytogenes</i>
キャベツ	5.3×10^3	300以下	-	-	-	-
ダイコン	4.1×10^3	300以下	-	-	-	-
ニンジン	1.2×10^3	300以下	-	-	-	+

なお、拭き取り検査において、大腸菌や食中毒菌は、全く検出されなかった。

(4) 身欠きニシン等の細菌検査結果

表 1, 2 に加工工程中における身欠きニシンと野菜類の細菌検査結果を示した。身欠きニシンは冷凍原料で一般生菌数が $3.4 \sim 6.1 \times 10^7$ cfu/g, 大腸菌群が $1.8 \sim 2.9 \times 10^7$ cfu/g, と非常に高くリステリア菌も陽性と判定された。さらに、加工工程中の水戻しや殺菌剤処理後も菌数の増減はなく、リステリア菌も陽性であった。

野菜類については、カット前のダイコンとキャベツで、一般生菌数が $10^6 \sim 10^7$ cfu/g, 大腸菌群が $1.0 \sim 1.8 \times 10^4$ cfu/g, と非常に高かった。しかし、カット後の野菜類は一般生菌数が $1.2 \sim 5.3 \times 10^3$ cfu/g, 大腸菌群が 300cfu/g 以下と低かった。これは、カット時に野菜類の皮や泥の付いた部分を除去し、さらにオゾン水による洗浄効果で菌数が減ったと考えられた。なお、

食中毒菌については、カット後のニンジンでリステリア菌が陽性と判定されたが、図 1 に示した混合前の段階で身欠きニシンとの接触で菌が付着した可能性が考えられた。

表 3 に製品中における身欠きニシンの細菌検査結果を示した。一般生菌数は、 $1.5 \sim 7.9 \times 10^7$ cfu/g, 大腸菌群は $8.2 \times 10^6 \sim 5.6 \times 10^7$ cfu/g で、冷凍原料とほとんど差がないことが明らかとなった。また、冷凍原料で陽性だったリステリア菌についても、検査した 10 検体のすべてが陽性となった。このことから、ニンジン漬け製造において、製品への細菌汚染は、身欠きニシンの入荷した時点での衛生状態に大きく影響を受けることが示唆された。

(5) 身欠きニシンの理化学的性状変化

表 4, 5 に加工工程中における身欠きニシンの理化学的性状変化を示した。水分は、冷凍原料で 24.2%と低く、水戻し・殺菌剤処理で 51.7%まで増加し、製品で 60.0%となった。

塩分は、冷凍原料で0.9%、水戻し・殺菌剤処理で0.1%まで低下し、製品では調味液の影響で1.8%となった。水分活性は、冷凍原料で0.936と低かったが、水戻し・殺菌剤処理で0.986まで増加し、製品では調味液の影響で

0.963まで低下した。pHは製品で6.7と比較的高いが、これは製造直後で熟成が進んでいなかったためと考えられた。食味試験では、甘さが強く感じられ、調味液の影響を強く受けたと考えられた。

表3 製品中における身欠きニシン細菌検査の結果

n=10	一般生菌数 CFU/g	大腸菌群 CFU/g	大腸菌	O157	サルモネラ属菌	<i>L.monocytogenes</i>
製品1	2.7×10^7	1.6×10^7	-	-	-	+
製品2	5.3×10^7	3.2×10^7	-	-	-	+
製品3	4.3×10^7	2.5×10^7	-	-	-	+
製品4	3.6×10^7	2.4×10^7	-	-	-	+
製品5	2.7×10^7	1.9×10^7	-	-	-	+
製品6	7.9×10^7	5.6×10^7	-	-	-	+
製品7	2.8×10^7	2.0×10^7	-	-	-	+
製品8	2.2×10^7	1.4×10^7	-	-	-	+
製品9	1.5×10^7	8.2×10^6	-	-	-	+
製品10	2.0×10^7	1.4×10^7	-	-	-	+

表4 加工工程中の身欠きニシン理化学的性状

n=3	水分 (%)	塩分 (%)	水分活性	pH
冷凍原料1	27.7	0.9	0.931	7.1
冷凍原料2	21.9	0.9	0.935	7.0
冷凍原料3	23.2	1.0	0.942	6.9
平均値	24.2	0.9	0.936	7.0
SD	3.0	0.1	0.006	0.1
殺菌剤処理後1	50.7	0.1	0.977	7.0
殺菌剤処理後2	52.4	0.1	0.996	7.0
殺菌剤処理後3	52.1	0.2	0.984	7.1
平均値	51.7	0.1	0.986	7.0
SD	0.9	0.0	0.009	0.0

表5 製品中の身欠きニシン理化学的性状

n=10	水分 (%)	塩分 (%)	水分活性	pH
製品1	58.5	1.7	0.990	6.6
製品2	60.9	1.6	0.979	6.7
製品3	60.4	1.6	0.955	6.8
製品4	60.6	1.8	0.972	6.8
製品5	59.9	1.7	0.960	6.7
製品6	59.7	1.7	0.971	6.7
製品7	59.2	1.8	0.948	6.7
製品8	57.8	1.8	0.957	6.7
製品9	61.4	1.8	0.962	6.8
製品10	61.0	1.7	0.970	6.7
平均値	60.0	1.8	0.963	6.7
SD	1.2	0.1	0.012	0.1

D. 考察

身欠きニシンは、冷凍原料段階の細菌数が多く、製品への影響が懸念された。昨年度の製品検査では、*L. monocytogenes*は検出されなかつ

たが、今年度は、身欠きニシンの冷凍原料段階で検出され、製品10件すべてで陽性となった。また、殺菌剤処理しても菌数が減少せず、リステリア菌も陰性とならなかったことから、細菌