

生管理としての HACCP モデル構築を行う。

B. 研究方法

分担報告書参照。

C. 研究結果、考察、結論

各分担報告書参照

D. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

現在準備中

H. 知的財産の出願・登録状況

特になし

漬物製造における食中毒菌の高度衛生管理に関する研究

分担研究報告書

（漬物工場の衛生微生物学的実態について）

研究協力者：上田成子（女子栄養大学・教授）、桑原祥浩（女子栄養大学・教授）

**研究要旨：**本年度は日本古来の伝統的発酵食品である漬物から分離した乳酸菌の食中毒細菌に対する抗微生物作用について検討した。

**A. 研究目的**

漬物は副食食品として、そのまま喫食される食品であり、野菜等を主原料としたもので、塩漬、醤油漬、味噌漬、粕漬等が市販されている。厚生労働省・全国食中毒事件録によると、1978年から2007年までの間に漬物が原因食品となった微生物食中毒事件は70件前後、患者数は4,000人ほどとなっている。これらの数字は他の食品による食中毒事件と比較して必ずしも大きいものではないが、漬物食品の安全性を一層確保する必要がある。本研究では、日本古来の伝統的発酵食品である漬物から分離した乳酸菌の食中毒細菌に対する抗微生物作用について検討した。

**B. 研究方法**

市販の漬物より分離した乳酸菌を用いて、病原株に対する抗菌活性を通常の方法により確認した。

**C. 研究結果**

1. 漬物から分離した乳酸菌340菌株についてストリーク法による食中毒細菌に対する抗微生物作用について検討した。試験に用いた食中毒細菌は *S. Enteritidis*、*E. coli*、*L. monocytogenes*、*S. aureus*、*B. cereus* の5菌種である。その結果は表1に示したように、*S. Enteritidis* は試験乳酸菌の0.8%(3菌株)、*E. coli* は試験乳酸菌の2.9%(10菌株)、*L. monocytogenes* は試験乳酸菌の2.9%(10菌株)、*S. aureus* は試験乳酸菌の1.1%(4菌株)、*B. cereus* は試験乳酸菌の3.5%(12菌株)に感受性を示した。

2. 広い抗菌スペクトルを示した乳酸菌No.44の *S. Enteritidis*、*E. coli*、*L. monocytogenes*、*S. aureus* および *B. cereus* に対する抗微生物

作用について検討した。各食中毒菌を  $10^8$  連続希釈した菌液を1%glucose加BHI寒天培地に混合した平板培地上に、1%glucose加BHIで1晩培養した乳酸菌培養液をを浸み込ませたペーパー・ディスクを載せ1晩培養し各食中毒細菌の発育阻止円を測定した。その結果は表2に示したように、食中毒細菌菌量が  $10^2$ CFU~ $10^3$  CFU/plateの平板では試験した各食中毒菌株の増殖が阻止され、また *L. monocytogenes*、*S. aureus* については  $10^4$ CFU / plateでも増殖阻止帯がみられた。

**D. 考察**

以上の結果から、漬物に存在する乳酸菌の一部は腸管病原菌に対して抗微生物作用があることを示し、このことから漬物中では腸管病原菌の増殖抑制効果があることが示唆されよう。

**E. 結論**

漬物に使用される乳酸菌は、長官病原体に関して抗菌力があることが証明された。

**F. 健康危険情報**

特になし

**G. 研究発表**

2010年中に学会発表の予定。

**H. 特許出願状況**

特になし

表1 漬物から分離した340菌株の食中毒細菌に対する抗微生物作用

食中毒細菌	試験菌株数	被検菌阻止株数 (%)
<i>S. Enteritidis</i>	340	3(0.8)
<i>E. coli</i>	340	10(2.9)
<i>L. monocytogenes</i>	340	10(2.9)
<i>S. aureus</i>	340	4(1.1)
<i>B. cereus</i>	340	12(3.5)

表2 乳酸菌 No.44 菌液 の種々菌量に調製した *S. Enteritidis*、*E. coli*、*L. monocytogenes*、*S. aureus*、*B. cereus* に対する平板上における抗微生物作用 (ディスク法)

菌数 <sup>1)</sup>	<i>S. Enteritidis</i>	<i>E. coli</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>
10 <sup>2</sup>	32 <sup>2)</sup>	31	35	33	35
10 <sup>3</sup>	30	30	33	32	32
10 <sup>4</sup>	— <sup>3)</sup>	—	32	33	—
10 <sup>5</sup>	—	—	—	—	—

<sup>1)</sup>単位：CFU / plate    <sup>2)</sup>単位：mm    <sup>3)</sup> —：増殖阻止帯なし

\*濾紙の直径：28mm

漬物製造における食中毒菌の高度衛生管理に関する研究

分担研究報告書

（身欠きニシン製造工程における微生物制御に関する試験）

北海道立中央水産試験場 加工利用部

担当者 木村 稔（主任研究員）  
菅原 玲（加工開発科長）  
今村琢磨（加工利用部長）

研究要旨

北海道の代表的な漬物製品である「ニシン漬け」において、原料となる身欠きニシンの加熱処理、ニシン乾燥中のアルコール・有機酸処理による微生物制御、乾燥工程での危害分析および乾燥条件による微生物制御に関する試験を行った。

その結果、菌数の増加した身欠きニシンの加熱処理は微生物制御に効果を認めたが、肉質の変性により身欠きニシン本来の物性を損ねた。また、乾燥工程中のアルコール・有機酸処理は、乾燥終了時で無処理に比べて 1/10～1/100 の静菌効果を認めたが、乾燥中の菌数増加を抑えることは困難であった。乾燥工程における危害分析では、乾燥機の送風出口のふき取り、乾燥室の前・後・横側の落下細菌およびニシンから食中毒菌は検出されなかった。特に落下細菌は、一般生菌数もほとんど検出されず、乾燥風は衛生的であることが明らかとなった。このことから、乾燥工程におけるニシンの菌数急増は、加工工程で付着した菌の増殖によるものと考えられた。

乾燥条件による微生物制御では、加工場の乾燥条件を想定し 18℃湿度 40% でニシンを乾燥したところ、原料処理を衛生的に行うことで、製品の一般生菌数を  $10^5$ /g 台、大腸菌群陰性とすることができた。このため、加工場での乾燥工程における菌数増加は、加工工程での二次汚染の影響が高いことが明らかとなった。

以上の結果から、増加した細菌を減らすことは難しいが、原料を衛生的に加工処理し二次汚染を無くすることで、乾燥中の菌数増加を抑制し、安心・安全な身欠きニシンを製造できることが明らかとなった。

1. 調査期間及び調査施設

A. 研究目的

北海道の代表的な漬物製品であるニシン漬けについて、原料となる身欠きニシン製造工程における微生物制御に関する試験を実施し、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。

本調査は、平成 21 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、身欠きニシンやカズノコ製品等を製造している。

B. 研究方法

2. 調査内容

### (1)加熱条件による微生物制御

試料は調査施設の八分乾製品を用いた。これを50、60、70℃で30分間の熱水・熱風処理および140、180、220℃で30、60、120、180秒間の過熱水蒸気による加熱で処理した。各処理におけるニシンの一般生菌数、大腸菌群、大腸菌、リステリア菌および品温を測定し、各加熱処理が微生物に与える影響について調べた。なお、熱水処理は試料を真空包装後に所定温度の熱水により、熱風処理は送風定温乾燥機(YAMATO DN84)により、過熱水蒸気処理は過熱水蒸気加工機(鈞路市加工センター)により行った。

### (2)エタノール・有機酸処理による微生物制御

試料はアメリカ産冷凍腹だしニシンを用いた。これを5℃で一晩解凍後、表1に示した各処理液を使用し、図1に示した乾燥手順に従い身欠きニシンを製造した。乾燥後におけるニシンの一般生菌数および大腸菌群を測定し、各液処理が微生物に与える影響について調べた。

### (3)乾燥工程中における落下細菌等の調査

調査施設における乾燥工程中のニシン、乾燥空気および乾燥機周辺の拭き取りによる衛生調査を実施した。本調査では、ニシンの原料、カット後、乾燥後の3回、落下細菌を3箇所3回、拭き取りを3箇所行い、それぞれ一般生菌数、大腸菌群、リステリア菌を測定し、環境中の衛生状態と乾燥後ニシンとの関連を調べた。

### (4)乾燥条件による微生物制御

試料はトギャック産抱卵ニシンを用いた。これを解凍後に腹だし、洗浄後、-25℃で凍結したものを適宜5℃で一晩解凍し、乾燥試験に供した。なお、腹だし等の作業は全て無菌的に行った。

ニシンの乾燥は、湿度制御乾燥機(ESPEC PR3KP)により、18℃湿度40%と15℃湿度40%の2試験区行った。乾燥中におけるニシンの一般生菌数、大腸菌群、リステリア菌を

測定し、乾燥温度が微生物に与える影響について調べた。

### (5)細菌検査

**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。

**リステリア菌**：試料25gにハーフプレーザー培地(オキシイド社)225mlを加え30℃24時間培養した。培養液0.1mlをプレーザー培地(オキシイド社)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をハーフプレーザー培地9mlにそれぞれ加え同様に検査した。

なお、落下細菌については、各培地を測定箇所を設置・回収した後、前述した各条件で培養し発生したコロニー数から求めた。

### (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. 研究結果および考察

### (1)加熱・過熱条件による微生物制御

表2に加熱条件による身欠きニシンの菌数変化を示した。処理前の身欠きニシンは、

一般生菌数と大腸菌群で  $10^7/g$  台と非常に高い菌数であった。熱水処理において、 $50^\circ C$ 30分では大腸菌群  $10^6/g$  台、 $60^\circ C$ 30分では大腸菌群 300 以下/g となり、さらに  $70^\circ C$ 30分では一般生菌数も  $10^2/g$  台まで減少し、高い殺菌効果が認められた。一方、熱風処理では  $60^\circ C$  及び  $70^\circ C$ 30分で大腸菌群が減少したが、一般生菌数は高いレベルであった。これは、図2に示したように、熱風処理では、ニシンの中心温度が目的温度まで達するのに時間を要したためであり、乾燥時間の延長により殺菌効果を得られると考えられた。また、殺菌効果のあった  $60^\circ C$  と  $70^\circ C$  の熱水処理では、筋肉タンパク質の変性により肉質も脆くなることが明らかとなった。なお、大腸菌およびリステリア菌は全て陰性であった。

表3に過熱水蒸気の加熱条件による身欠きニシン菌数と水分の変化を示した。処理前の身欠きニシンは、一般生菌数  $10^7/g$  台、大腸菌群  $10^6/g$  台と非常に高い菌数であった。過熱処理  $140^\circ C$ 180秒、 $180^\circ C$ 100秒、 $220^\circ C$ 180秒の処理では、一般生菌数および大腸菌群が 300 以下/g となり、短時間で大幅な殺菌効果を得られた。しかし、個体によって昇温に違いがあるため、一定の殺菌効果を得るためには、設定した過熱温度よりも時間を長くすることが必要と考えられた。また、殺菌効果の得られた加熱条件では、身欠きニシンは焼き魚様となり、前述した加熱よりもさらに肉質が脆くなっていた。

## (2) エタノール・有機酸処理による微生物制御

表4に各液処理における乾燥後の水分と菌数変化を示した。乾燥前の原料は、水分 71% で、一般生菌数  $10^5/g$  台、大腸菌群  $10^3/g$  台と菌数が高かった。この要因として、輸入冷凍ニシンを用いたカズノコ加工の解凍、腹だし、洗浄、再冷凍までの作業において、ニシンの取り扱いや環境の衛生状態に影響されたものと考えられた。

液処理無しの対照では、一般生菌数と大腸菌群で  $10^8/g$  台まで増加した。一方、各処理

液区では、一般生菌数と大腸菌群ともに  $10^6/g \sim 10^7/g$  と対照区に比べてやや低い菌数であった。これは、アルコールによる殺菌作用や酢酸等による pH 低下の影響と考えられた。しかし、大腸菌群については、乾燥前の原料と比べて 1,000~10,000 倍に増加しており、それほど大きな効果は認められなかった。

## (3) 乾燥工程中における落下細菌等の調査

表5に乾燥工程中におけるニシンの細菌検査結果を示した。原料とカットした後のニシンの一般生菌数は  $10^3 \sim 10^4/g$ 、大腸菌群は  $10 \sim 10^2/g$  であった。しかし、4日間の乾燥後、生乾(水分 53.5%)、八分乾(水分 41.5%) で一般生菌数  $10^8/g$  台、大腸菌群  $10^7 \sim 10^8/g$  まで増加した。表6に示した乾燥工程中の落下細菌数では、3回の調査で一般生菌数を僅かに検出しただけで、大腸菌群やリステリア菌は陰性であった。以上の結果から、ニシン菌数の増加について、乾燥工程中の乾燥風による二次汚染の影響はほとんど無いと考えられた。このため、原料あるいは乾燥前の作業工程で汚染された菌が、乾燥中に増加したものと思われた。表7に示した乾燥機周辺の拭き取り検査では、 $10^3 \sim 10^6/100cm^2$  とやや高く、ほこりが舞う可能性もあるため洗浄・消毒を心がけるよう指導した。

## (4) 乾燥条件による微生物制御

図3にニシン乾燥中の歩留まりの変化を示した。 $18^\circ C$ 乾燥区の歩留まりは 24h まで急激にその後は穏やかに低下し、144h(6日目)で 50% となった。一方、 $15^\circ C$ 乾燥区の歩留まりは、乾燥当初から穏やかに低下し、168h(7日目)で 50% となった。

表8に乾燥中におけるニシン細菌数の変化を示した。今回のニシン原料は、水分 63.7% と低く、脂の多いものであった。乾燥終了時の水分はそれぞれ 36.8%、32.4% となった。ニシン原料の一般生菌数は、抱卵冷凍ニシンの解凍、腹だし、洗浄、再冷凍までの作業を無菌的に行ったため 300 以下/g と

非常に少なかった。また、乾燥終了時の一般生菌数は両区ともに  $10^5$ /g 台と低く、作業を衛生的に行い乾燥前の菌数を少なくすることで、衛生的に製造できることが示唆された。特に大腸菌群は、乾燥後も陰性となっており、腹だし工程でヒトや器具からの二次汚染の無いことが非常に重要と考えられた。また、乾燥温度を  $3^{\circ}\text{C}$  下げても菌数に差がなく、積算温度が変わらない場合、菌数に差が生じにくいことも明らかとなった。

#### D. 結論

- ・加熱による微生物制御は、 $60^{\circ}\text{C}$  以上 30 分の熱水処理で効果が認められた。しかし、熱変性により肉質が脆くなった。
- ・過熱水蒸気の加熱による微生物制御は、 $140^{\circ}\text{C}$  以上 180 秒の短時間で効果が認められた。しかし、加熱むらが大きいこと、焼き魚様に変性することが明らかとなった。
- ・乾燥工程でのアルコールや有機酸の処理は、無処理に比べてやや静菌効果が認められた。
- ・乾燥工程での菌数増加は、落下細菌の影響がほとんど無く、腹だしやカット作業などで付着した菌の増殖によるものと考えられた。
- ・このため、乾燥前の加工工程で衛生的な処理を行うことで、製品の一般生菌数を  $10^5$ /g 台、大腸菌群陰性とすることができ

た。

- ・大腸菌やリステリア菌は、全てのニシン検査で陰性であり、拭き取りや落下細菌の検査でも検出されなかった。
- ・但し、原料処理段階でこれらの菌に汚染されると、乾燥工程で急激に増加することが懸念された。
- ・今後、リステリア菌の汚染経路の解明や、大腸菌等の二次汚染を防止する衛生管理の体制づくりが重要である。

#### E. 健康危険情報

該当なし

#### F. 研究発表

1. 論文発表  
該当なし
2. 学会発表  
該当なし

#### G. 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

表1 各液処理区分

	濃度(%)		
	酢酸	エタノール	クエン酸
対照			
♯@	2.5		
♯A		5.0	
♯B	2.5	5.0	
♯C		70	
♯D			2.5

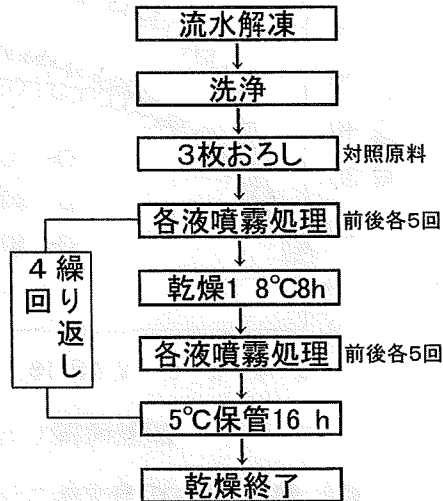


図1 各液処理による乾燥手順



表2 加熱条件による身欠きニシンの菌数変化

	温度	時間	一般生菌数	大腸菌群	大腸菌	リステリア菌
	°C	分	cfu/g	cfu/g		
処理前			$9.1 \times 10^7$	$3.0 \times 10^7$	陰性	陰性
熱水処理	50	30	$2.8 \times 10^7$	$1.2 \times 10^6$	陰性	陰性
	60	30	$1.5 \times 10^6$	300以下	陰性	陰性
熱風処理	50	30	$7.8 \times 10^7$	$1.6 \times 10^7$	陰性	陰性
	60	30	$1.7 \times 10^7$	$8.1 \times 10^4$	陰性	陰性
	70	30	$3.8 \times 10^6$	$2.5 \times 10^4$	陰性	陰性

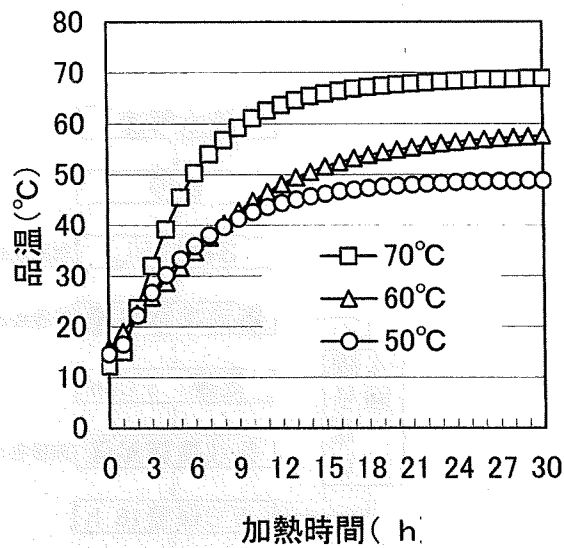


図2 熱風処理中の身欠きニシン品温の変化

表3 過熱条件による身欠きニシン 菌数と水分の変化

	処理時間	水分	品温	一般生菌数	大腸菌群	リステリア菌
	秒	%	°C	cfu/g	cfu/g	
処理前	0	53.0		$2.5 \times 10^7$	$5.3 \times 10^6$	陰性
140°C過熱処理	30	50.0	51.5	$5.3 \times 10^8$	$2.1 \times 10^8$	陰性
	60	48.7	64.9	$3.8 \times 10^8$	$9.9 \times 10^7$	陰性
	100	42.9	77.7	$9.0 \times 10^5$	$5.9 \times 10^4$	陰性
	180	34.6	78.8	300以下	300以下	陰性
180°C過熱処理	30	49.7	48.8	$8.8 \times 10^7$	$5.1 \times 10^6$	陰性
	60	44.5	49.4	$1.9 \times 10^7$	$1.2 \times 10^6$	陰性
	100	44.8	56.1	300以下	300以下	陰性
	180	46.9	73.4	300以下	300以下	陰性
220°C過熱処理	30	43.4	52.1	$2.7 \times 10^7$	$6.6 \times 10^6$	陰性
	60	42.7	56.9	$9.0 \times 10^6$	$5.0 \times 10^5$	陰性
	100	45.8 <sup>2</sup>	74.9	$8.1 \times 10^4$	300以下	陰性
	180	42.7	84.1	300以下	300以下	陰性

表4 各液処理における乾燥後の水分と菌数変化

	水分 %	一般生菌数 cfu/g	大腸菌群 cfu/g
対照(原料)	71.8	$1.3 \times 10^5$	$2.4 \times 10^3$
対照(乾燥後)	45.6	$3.4 \times 10^8$	$1.7 \times 10^8$
キ @	41.8	$2.0 \times 10^7$	$6.9 \times 10^6$
キ A	36.9	$7.3 \times 10^6$	$2.3 \times 10^6$
キ B	44.1	$8.7 \times 10^7$	$1.0 \times 10^7$
キ C	41.4	$8.3 \times 10^6$	$2.6 \times 10^6$
キ D	39.9	$6.4 \times 10^7$	$1.0 \times 10^7$

表5 ニシンの検査結果

	一般生菌数 cfu/g	大腸菌群 cfu/g	リステリア菌	水分 %
原料	$1.3 \times 10^4$	$3.0 \times 10^2$	陰性	
カット後	$9.0 \times 10^3$	$7.0 \times 10^1$	陰性	
乾燥後生乾	$4.4 \times 10^8$	$2.6 \times 10^8$	陰性	53.5
乾燥後八分乾	$1.5 \times 10^8$	$7.0 \times 10^7$	陰性	41.5

表6 乾燥工程における落下細菌数

	一般生菌数 cfu/h	大腸菌群 cfu/h	リステリア菌 cfu/h
初日			
台車前	2	陰性	陰性
台車後	1	陰性	陰性
送風機前	1	陰性	陰性
乾燥1日目			
台車前	0	陰性	陰性
台車後	0	陰性	陰性
送風機前	0	陰性	陰性
乾燥2日目			
台車前	1	陰性	陰性
台車後	0	陰性	陰性
送風機前	0	陰性	陰性

表7 乾燥機周辺の拭き取り検査の結果

	一般生菌数 cfu/100cm <sup>2</sup>	大腸菌群 cfu/100cm <sup>2</sup>	リステリア菌
拭き取り1	4.0 × 10 <sup>3</sup>	陰性	陰性
拭き取り2	1.6 × 10 <sup>6</sup>	陰性	陰性
拭き取り3	6.0 × 10 <sup>4</sup>	陰性	陰性

表8 乾燥中におけるニシン細菌数の変化

	一般生菌数 cfu/g	大腸菌群 cfu/g	リステリア	積算温度 h × °C	水分 %
ニシン原料	300以下	陰性	陰性		63.7
18°C乾燥区	1.5 × 10 <sup>5</sup>	陰性	陰性	2592	36.8
15°C乾燥区	2.2 × 10 <sup>5</sup>	陰性	陰性	2520	32.4

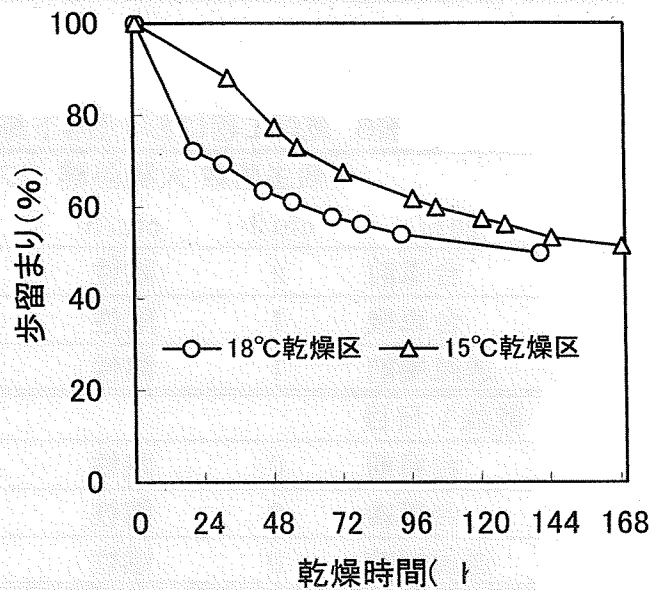


図3 乾燥中のニシン歩留まりの変化

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

牧野壮一（帯広畜産大学）

研究協力者：武士 甲一（帯広畜産大学・畜産学部・教授）、川本 恵子（帯広畜産大学・大動物特殊疾病研究センター・准教授）、松原伸二（株式会社キュー・アンド・シー）、宮尾茂雄（東京家政大学・食品加工学研究室・教授）

研究要旨 近年、各種食品製造施設において、食品の安全性確保についてより一層の向上を図るため、危害分析重要管理点方式（HACCP）を導入した衛生管理システムの構築が進められている。HACCP 導入にあたっては、対象食品について発生しうる危害を科学的データに基づいて評価し、原料の搬入から製品となる製造の各段階で発生する危害を分析し、その管理手法を確立することが重要である。本研究では、果実・野菜・漬け物類を対象食品とし、各製造工程における危害分析を行い、その有害微生物の制御手法を確立するとともに、安全な食品製造における HACCP モデルを作成する。

漬物は日本特有の一夜漬け、たくあん漬などや、外来のキムチ、ピクルスなど多様である。また、日本特有の漬物にしても外国から原材料が入ってくるケースもある。そのため、海外の衛生状況により、輸入品の汚染状況も変化する。漬物は塩分含有量などから食中毒の原因として考えることは一般的ではない。しかし、過去には一夜漬けや浅漬けが原因の食中毒は実際に起こっている。この原因は、原材料の加熱工程を経ずに喫食される加工品であるため、食中毒の原因となりうる、と考えられるからである。例えば、鶏肉にサルモネラ汚染があっても、加熱工程を経るので相当なところまでリスクは軽減できるが、漬物、特に浅漬けは生である。帯広 O157 事件の際の再現実験でも、塩をふったキュウリの薄切りでは一晩で O157 やサルモネラの増殖が確認されており、原材料における汚染が大きく作用するが、汚染された漬物は食中毒の原因になる確率は相当に高いといえる。このような漬物の衛生に関しては、規格基準はなく、指導基準である衛生規範があるのみである。すなわち、営業者が自ら行う衛生上の管理のガイドラインとも言うべきものである。さらに、漬物製造に関して、HACCP の導入を視野に入れた高度衛生管理についての提言も示されているが、実際は漬物の汚染が確認されている。そこで、漬物の製造は自主管理に任されている現状で、どの程度の汚染があり、ヒトへの健康被害の可能性について明らかにする必要がある。

本分担研究は、生鮮野菜を原材料とし、非加熱で摂取する「浅漬け」において、工場内外の環境、製造工程および半製品、製品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ために行った。また、平成 19 年度の検査結果を踏まえ、リステリアの制御を重点的に行った。その結果、本年度の拭き取り検査の結果を、平成 19 年に比べ大きな改善がみられた。半製品および製品検査の結果も平成 20 年度は検出されなかった。さらに、工場周囲のリステリア汚

染調査の結果は、平成 19 年度は工場周囲 10 箇所中、7 箇所からリステリアが検出されたのに対し、平成 20 年度は 1 箇所のみであった。北海道においては、生産拠点として 1 次加工を行う工場が数多く存在するが、HACCP システムを導入している工場はまだ少ないのが現状である。その中でも、特に漬け物やカット野菜などの非加熱摂取食品においては、早急に HACCP システムを構築する必要がある。本調査の最終年度を終え、構築した HACCP システムを継続的に運用し、北海道内の 1 次加工施設のモデルケースとして確立したいと考えている。

## A. 研究目的

本研究は生鮮野菜を原材料とし、非加熱で摂取する「浅漬け」において、工場内外の環境、製造工程および半製品、製品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ことを目的としている。また平成 19 年度および平成 20 年度の検査結果を踏まえ、リステリアの制御を重点的に行った。

## B. 研究方法

### 1. 調査期間および調査施設

本調査は平成 21 年 1 月から平成 22 年 1 月にかけて実施した。調査施設は北海道胆振管内にあり、浅漬け製品をはじめ、キムチ、生姜漬け（ガリ等）を製造している。

### 2. 調査試料

#### (1) 原料

原料となる生鮮野菜（白菜、人参、胡瓜、大根、茄子等）は市場から購入されたものであり、生産者の特定は困難であった。原料については、製造加工中の半製品として調査を行った。

#### (2) 工場内外環境

工場周囲の環境（土砂、草）および漬け物製造中の工場内施設設備（床、壁等）および機械器具類の調査を行っ

た。

### (3) 製品

製品 17 品について、細菌検査を行った。

## 3. 検査方法

原料、半製品および製品について、ハサミを用いて細かく切断し、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、*E.coli*、リステリアについて行った。工場周囲の環境については、土砂、草を採取し、リステリアについて汚染調査を行った。工場内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、これを滅菌緩衝液に浮遊させて均一な試料とした。

検査方法の詳細は別紙 1 に「検査プロトコール」として示した。

### (1) 一般生菌数

試料 25g に滅菌リン酸緩衝液 225ml を加え、試料原液（10 倍乳剤）を調整した。拭き取り試料については、拭き取りブース 1 個に滅菌リン酸緩衝液 9ml を加え、試料原液（10 倍乳剤）を作成した。試料原液を適宜希釈し、標準寒天培地による混釈培養を行い、一般生菌数を測定した。

### (2) *E.coli*

EC 培地発酵管各 3 本に 1ml ずつ加え 44.5°C 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 寒天培地に塗抹し、44.5°C に 4±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。

### (3) リステリア

試料 25g にハーフプレーザー培地 225ml を加え 30°C 24 時間培養した。培養液 0.1ml をプレーザー培地 10ml に接種し 35°C 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に塗抹し、37°C 24~48 時間培養した。水色ハロー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 をハーフプレーザー培地 9ml にそれぞれ加え同様に検査した。なお、分離培養時に擬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試験を行い、必要に応じて帯広畜産大学に培養株を送付した。

## C. 研究結果

### (1) 拭き取り検査の結果

別紙 2 に「拭き取り検査の結果」を示した。なお、拭き取りは、施設設備、人が頻繁に触れる箇所および食品が直接触れる箇所を中心に行った。平成 19 年度は延べ 106 箇所中、23 箇所(検出率 21.7%)から、また平成 20 年度は延べ 55 箇所中、2 箇所(検出率 3.6%)からリステリアが検出されたのに対し、平成 21 年度は延べ 55 箇所中、7 箇所(検出率 12.7%)からリステリアが検出された。本

年度に検出されたのは、いずれも床からのみであった。平成 20 年 1 月以降の検査は、平成 19 年 10 月に行った際にリステリアが検出された箇所(延べ 60 箇所中、23 箇所から検出)を中心に行った。その他、同箇所でも *E.coli* 検査も行ったが、いずれも陰性であった。平成 19 年 10 月の検査においてリステリアの検出率が高かったことを受け、速やかに応急処置(工場外部との遮断強化、殺菌剤の変更と使用方法のマニュアル化、等)を施し、全社的に衛生改善(HACCP チームの結成、5S の改善、等)を進めた結果、平成 20 年度以降、リステリアの検出率は大幅に減少したが、完全に撲滅するには至っていない。一般生菌数については、平成 19 年度と比較し、平成 20 年度は顕著な減少が見られたが、平成 21 年度は若干の減少で推移している。

### (2) 半製品および製品検査の結果

別紙 3 に「半製品および製品検査の結果」を示した。平成 19 年度は半製品および製品よりリステリアが高い確率で検出(検出率 73.3%)されたのに対し、平成 20 年度は検出されなかったが、平成 21 年度は特定の品目(キャベツミックス)を中心に検出が散見(検出率 35.0%)された。製品の一般生菌数は平成 20 年度と比較し高い傾向が見られた。

### (3) 工場周囲のリステリア汚染調査の結果

別紙 4 に「工場周囲のリステリア汚染調査の結果」を示した。実施日は平成 19 年度、平成 20 年度と気候条件(気温、湿度等)をほぼ同じにするため 11

月に実施した。平成 19 年度は工場周囲 10 箇所中、7 箇所からリステリアが検出されたのに対し、平成 20 年度は 1 箇所のみ、平成 21 年度は検出されなかった。本工場は周囲に酪農を営む業者が多く、微生物的にみると環境的に良いとは言えない。工場周囲のリステリアの検出状況にどの位影響しているのか興味があるが、本年度において関連づける調査は行っていない。

#### (4) 平成 21 年度の取り組みのまとめ

平成 19 年度における工場内外および製品の高いリステリア汚染の結果を受け、平成 20 年度はその改善に一定の成果を確認した。平成 21 年度はリステリアの撲滅と工場内の衛生状態の維持継続に対して、以下の対策を講じた。

##### ①製造工場内および製品のリステリア汚染の撲滅

これまでの検査結果より、最終製品へのリステリア汚染の原因として工場周囲からの工場内持込みが最も可能性が高いと考えられ、工場外部との遮断を強化した。すなわち、外部からのフォークリフトや台車等の工場内への侵入制限を行うこと、入場の際には必ずサニタリー室において、靴殺菌、手洗い、エアシャワーを経由すること、等を平成 20 年度から引き続き徹底した。

また、工場内で使用する機械器具等の殺菌に、グラム陽性菌に対して効果のある「第 4 級アンモニウム塩（塩化ベンザルコニウム）」の使用を継続した。また新たに施設設備および原料野菜の殺菌を目的に次亜塩素酸水を用いることとした。これまでは原料野菜の殺菌

には「次亜塩素酸ナトリウム」を使用していたが、有効塩素を保つための濃度管理が困難なことから十分な殺菌が期待できなかった。そこで新たに約 300 万円を投資し、「次亜塩素酸水生成装置」を導入し、原料野菜の一次殺菌にオーバーフローとバブリング（エアブロー）を伴う次亜塩素酸水による殺菌工程を設計した。また、施設設備においては、リステリアの検出率の高い床について、作業終了後に次亜塩素酸水を散水することによるリステリアを含む病原微生物の殺菌をマニュアル化した。

##### ②製造工場内の一般生菌数および病原微生物の制御

平成 20 年度からの取り組みである洗剤、殺菌剤、ブラシなどの洗浄ツールの完備およびそれらを使用した清掃・洗浄の強化を継続して行った。また、5 S の徹底も継続した。

また、北海道が運営する「HACCP に基づく衛生管理導入評価制度」において「段階 6」（最高段階は 8）を取得することを目標に取り組んだ。その結果、一般的衛生管理事項についてマニュアル化がほぼ確立した。また HACCP システムの導入については、各工程毎に危害分析を行い、HACCP プランを構築した。現在は現場へのシステム導入を進めている所である。（別紙 5）。

#### D. 考察および結論

今回の 3 ヶ年の厚生労働科学研究費補助金事業を終え、当該施設の衛生管理の向上について、一定の成果が得られた。事業を進める中で浮き彫りに

なったリステリア汚染の問題は、リステリアの撲滅までには至っていないが、汚染源の特定と現場の汚染程度の顕著な減少を確認することができた。今後は汚染源と思われる工場周囲の環境（汚染物質）を工場内に持ち込まないために一層の工場内外の遮断強化を進めなければならない。まず、原材料および製品の入出荷エリアのハード的な遮断が望まれる。現在は、設備的なゾーニングが不十分なため、ソフト面での対応を行っているが、将来的には設備の改修を行い、工場内外の遮断を強化することが優先的な課題と考える。

HACCP システムの導入については、「HACCP に基づく衛生管理導入評価制度（北海道）」に取り組んだ。当初は「段階2（最高段階は8）」の評価であったが、事業終了時には目標の「段階6」には及ばなかったが「段階5」の評価を得た（北海道登録評価機関による）。今後の課題は、早急に現場へシステムを浸透させていくことと考える。

北海道においては、生産拠点として1次加工を行う工場が数多く存在するが、HACCP システムを導入している

工場はまだ少ないのが現状である。その中でも、特に漬け物やカット野菜などの非加熱摂取食品においては、早急に HACCP システムを構築する必要がある。本調査の最終年度を終え、構築した HACCP システムを継続的に運用し、北海道内の1次加工施設のモデルケースとして確立したいと考えている。

#### **E. 健康危険情報**

該当なし

#### **F. 研究発表**

##### 1. 論文発表

該当なし

##### 2. 学会発表

該当なし

#### **G. 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

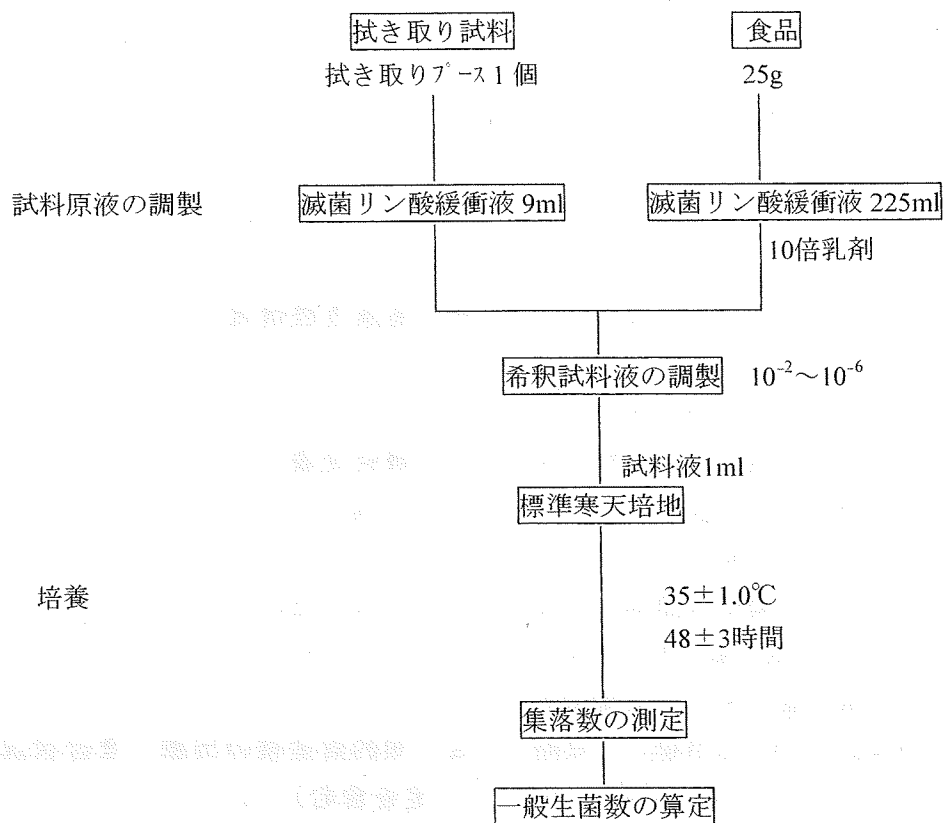
該当なし

##### 3. その他

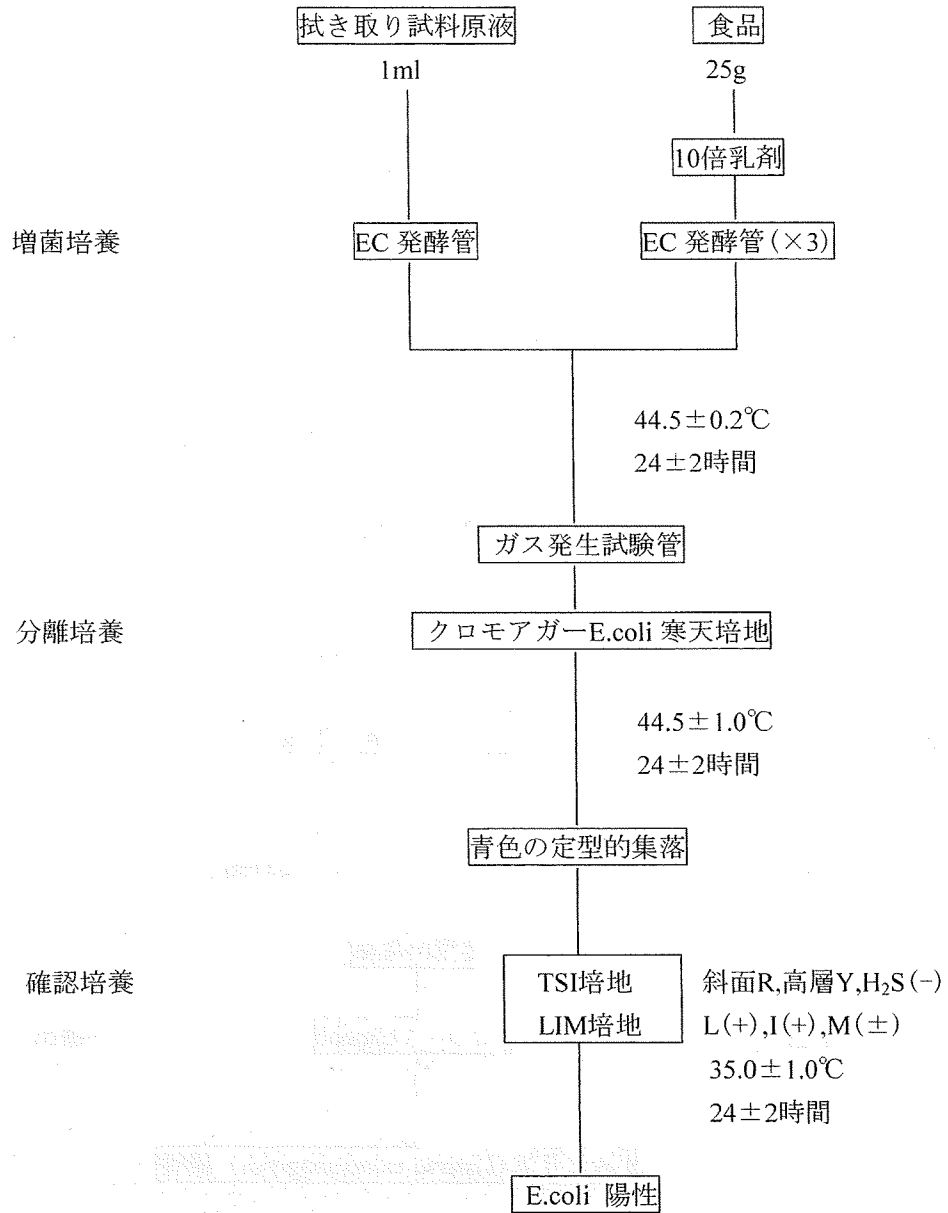
該当なし



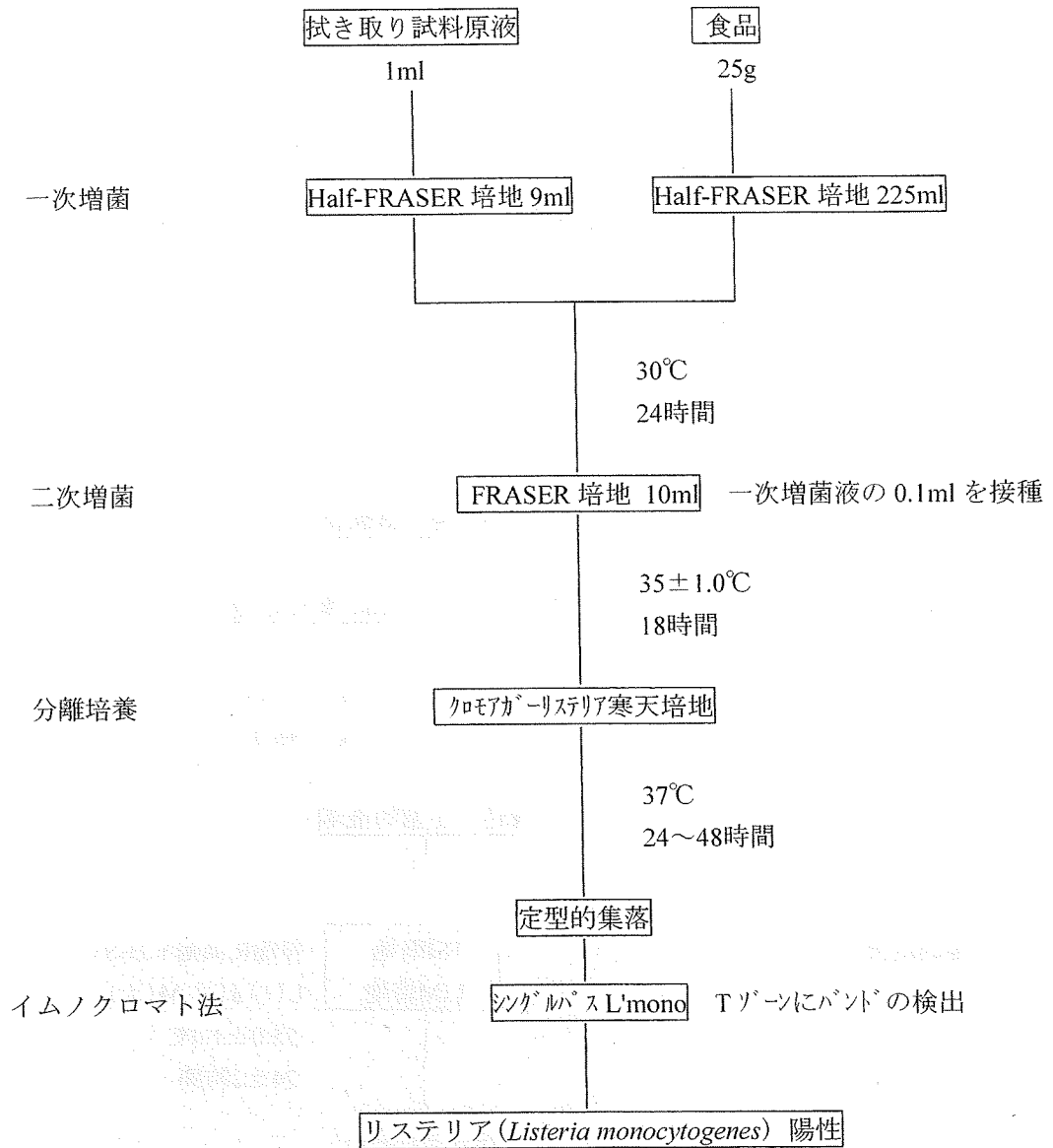
別紙 1-1 : 一般生菌数検査法



別紙 1-2 : E.coli 検査法



別紙 1-3 : リステリア (*Listeria monocytogenes*) 検査法



別紙3 A1半製品及び製品

平成19年度調査

No	検体	備考	一般細菌数 /g	E.coli /0.3g	リスタリヤ 属菌/25g	サルモネラ 属菌/25g	EHEC O157/25g
1	キャベツ	(外皮、未洗浄、廃棄部分)	4,200,000	陰性	陽性	陰性	陰性
2	キャベツ	(外皮、芯抜き後、殺菌中)	4,900	陰性	陽性	陰性	陰性
3	キャベツ	(カット、殺菌、洗浄後)	9,700	陰性	陽性	陰性	陰性
4	キャベツ	(漬込後)	31,000	陰性	陽性	陰性	陰性
5	白菜	(外皮、未洗浄、廃棄部分)	3,500,000	陰性	陰性	陰性	陰性
6	白菜	(カット、殺菌、洗浄後)	80,000	陰性	陰性	陰性	陰性
7	白菜	(漬込中)	4,500,000	陰性	陽性	陰性	陰性
8	白菜	(四つ割、漬込後、カット中)	180,000	陰性	陽性	陰性	陰性
9	白菜	(漬込樽残液分)	1,500,000	陰性	陽性	陰性	陰性
10	大根	(皮、廃棄部分)	4,000,000	陰性	陽性	陰性	陰性
11	大根	(皮ムキ→カット後、洗浄前)	520,000	陰性	陽性	陰性	陰性
12	大根	(漬込後)	1,200,000	陰性	陽性	陰性	陰性
13	大根	(漬込後、カット中)	210,000	陰性	陽性	陰性	陰性
14	きゅうり	(塩振り後、漬込前)	520,000	陰性	陰性	陰性	陰性
15	きゅうり	(漬込中)	310,000	陰性	陰性	陰性	陰性
16	きゅうり	(漬込後)	53,000	陰性	陰性	陰性	陰性
17	なす	(原料、洗浄前)	1,000	陰性	陰性	陰性	陰性
18	なす	(漬込後)	120,000	陰性	陽性	陰性	陰性
19	人参千切り		4,000,000	陰性	陰性	陰性	陰性
20	紅鮭	(紅鮭稚漬用)	6,000	陰性	陽性	陰性	陰性
21	にしん	(にしん漬用)	16,000,000	陰性	陰性	陰性	陰性
22	糀	(糀漬用)	14,000,000	陰性	陽性	陰性	陰性
23	ミックス	(白菜・キャベツ・大根・人参、漬込後)	1,100,000	陰性	陽性	陰性	陰性
24	ミックス	(白菜・きゅうり・人参、漬込後)	14,000,000	陰性	陽性	陰性	陰性
25	キムチ漬	(調味後、盛付前)	1,300,000	陰性	陽性	陰性	陰性
26	手造り白菜<賞味期限:07.10.22>	製品	140,000	陰性	陽性	陰性	陰性
27	さわやか茄子<賞味期限:07.10.21>	製品	88,000	陰性	陽性	陰性	陰性
28	かぶきゅう<賞味期限:07.10.22>	製品	710,000	陰性	陽性	陰性	陰性
29	キャベツミックス<賞味期限:07.10.22>	製品	170,000	陰性	陽性	陰性	陰性
30	白菜ミックス<賞味期限:07.10.22>	製品	1,800,000	陰性	陽性	陰性	陰性