

今後検討すべき課題と考える。

衛生規範改正前後に流通した浅漬け製品の衛生状況に関する比較解析では、大腸菌群については複数製品において減少傾向が認められ、乳酸菌数については反対に増加傾向を示す製品が複数認められた。生菌数については明確な変動は認められなかった他、大腸菌については全ての供試検体で陰性を示した。これらの成績を勘案すると、衛生規範改正に伴い、供試製品については、衛生状況の改善が図られたと考えられる。その一方、浅漬けをはじめとする非動物性食品の製造工程における衛生指標として、生菌数や大腸菌群を用いる意義は必ずしも高いとは言いがたく、欧州等で報告されているように、大腸菌を用いた衛生管理を行う必然性を提唱していると目される。その導入にあたっては、更なる検証データの集積が必要と考えられる。菌叢解析結果より、供試製品での優勢菌叢は、衛生規範の改正前後で大きな変動を示した。改正前に優勢菌叢として同定された、*Roseateles* spp., *Rhizobium* spp., 及び *Sphingomonas* spp. については、生鮮野菜・果実より高頻度に分離されているが、これらは薬剤耐性菌としての報告もある他、疾病との関連性も示唆されている。これらの構成比の低減は従って、微生物危害の低減につながるものと示唆され、衛生規範改正に伴う、製品の衛生状況改善が果たされたものと考えられる。

一方、大腸菌群に属する *Buttiauxella* spp. については、1 製品 (No. 5) において優勢な構成比を示した。当該菌については、非糞便性の非病原細菌であり、土壌や植物、水等の環境由来細菌として知られる。製品 No. 5 は改正後に大腸菌群数を増加させていたが、菌叢解析の成績より、同数値の増加は、病原性を有する大腸菌群によるものではないと目された。

乳酸菌数は、改正後の複数製品において増加を認めたが、これに呼応した形で乳酸菌に含まれる菌叢の構成比も増加傾向を示した。乳酸菌はバイオフィーム形成等を介して、酸等の環境ストレスに抵抗性を示す他、一部の乳酸菌については、0.04%以上の次亜塩素酸ナトリウムに対して抵抗性を示すことも知られている。衛生規範改正に伴う、次亜塩素酸ナトリウムの使用励行が、結果として乳酸菌の生残に有効に機能していることが示唆された。

漬物の衛生規範改正に伴う製造工程管理の在り方を考える上では、HACCP 導入についても考慮する必然性がある。本研究における成績は、衛生規範改正に伴う浅漬け製品の衛生状況の改善を確認できた一方、HACCP 導入に向けて求められる衛生管理上、必要不可欠な衛生指標の在り方に関する課題も提起された。欧州では生鮮野菜の製造衛生管理上、大腸菌を用いることが近年提唱されており、同基準の設定については、今後の我が国における生鮮野菜あるいは軽度の加工を行う非動物性食品の製造基準の在り方を議論・整理する必要がある。

E. 結論

本研究では、関東地方に流通する各種野菜浅漬け製品を対象に細菌試験を行い、主要病原微生物が検出されない実態を把握できた。β-グルクロニダーゼ産生性大腸菌も同様に陰性であったが、一般細菌数や大腸菌群数は一定の汚染を認めた。これら指標菌数は夏季に増加傾向を示した。浅漬け製品の構成細菌叢は概して原材料と季節に依存することが明らかとなった。また、製造実験を通じ、保存時間や漬込み液の性状等が構成細菌叢の変動要因となることを明らかにした。衛生規範改正を通じ、市販浅漬け供試製品では衛生状況の改善が確認された。その一方、生鮮野菜等を原材料とする食品の製造工程における衛生管理に、大腸菌群等は不適であり、大腸菌を使用する利点が想定され、その検証の必要性が提唱された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

・Asakura H, Tachinaba M, Taguchi M, Hiroi T, Kurazono H, Makino S, Kasuga F, Igimi S. Seasonal and growth-dependent dynamics of bacterial community in radish sprouts. *J Food Safety*. In press. doi: 10.1111/jfs.12256.

2. 学会発表

・朝倉宏、五十君静信、山本茂貴、春日文子. カイワレ大根の細菌叢解析. 第 156 回日本獣医学会学術集会. 2013 年 9 月、岐阜.

・橘理人、吉村昌徳、山本詩織、春日文子、五十君静信、朝倉宏. 衛生規範改正前後における市販浅漬け製品の指標菌数ならびに菌叢動態に関する比較検討. 第 42 回日本防菌防黴学会総会. 2015 年 9 月、大阪.

・吉村昌徳、磯陽子、橘理人、須田貴之、小西良子、春日文子、五十君静信、朝倉宏. 芽物野菜の種子における微生物汚染と、発育に応じた菌叢動態に関する検討. 第 42 回日本防菌防黴学会総会. 2015 年 9 月、大阪.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

なし

図1. 浅漬け検体からの衛生指標菌の検出状況

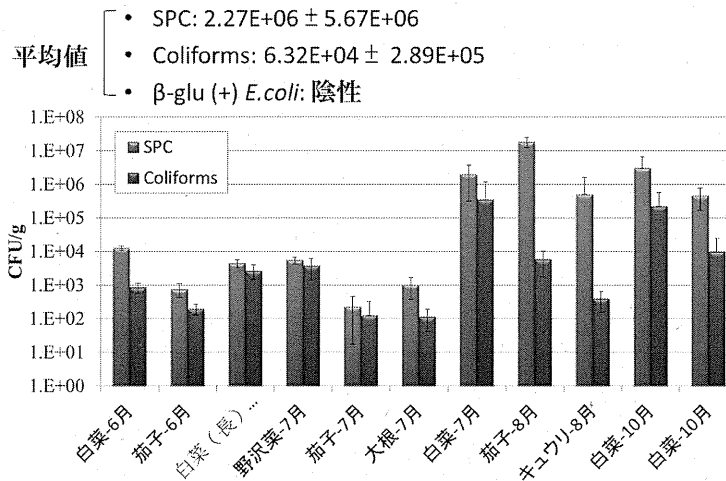
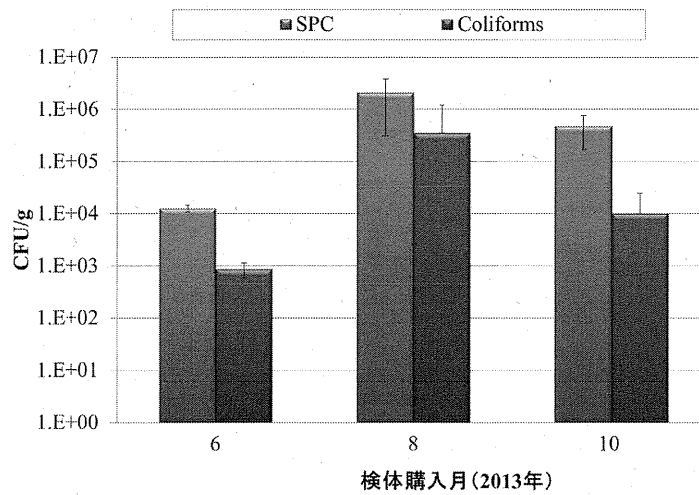


図2. 季節変化に伴う白菜浅漬由来指標菌定量数の変動



SPC, 一般細菌数; Coliforms, 大腸菌群数を示す。

図3. 浅漬け検体の構成細菌叢に係るクラスタリング解析

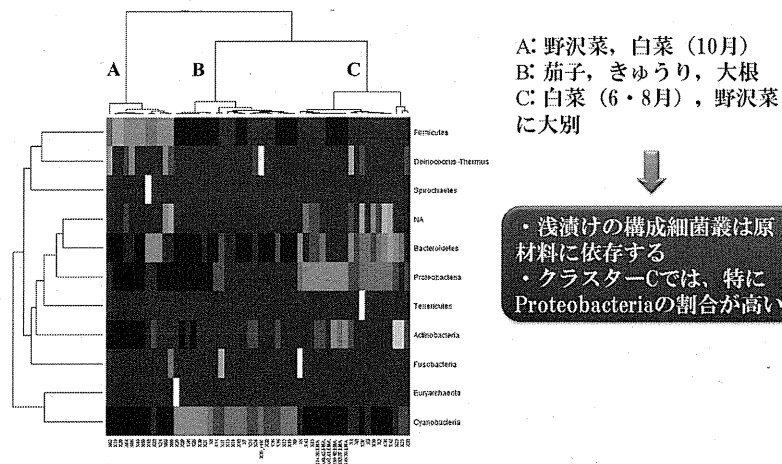


図4.浅漬け検体間の構成細菌叢データに係る主成分分析

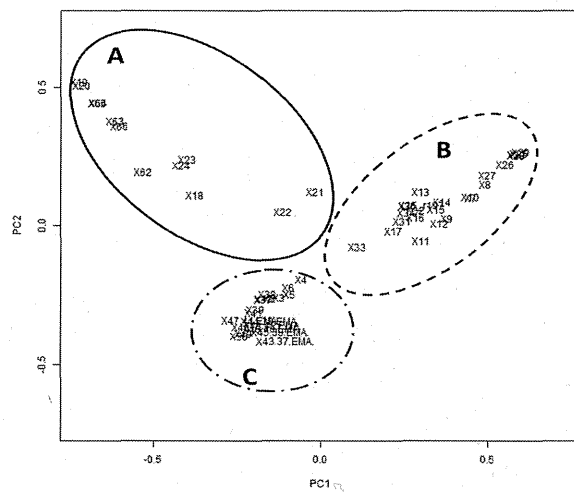


図5.白菜浅漬け検体の季節別構成細菌叢の比較

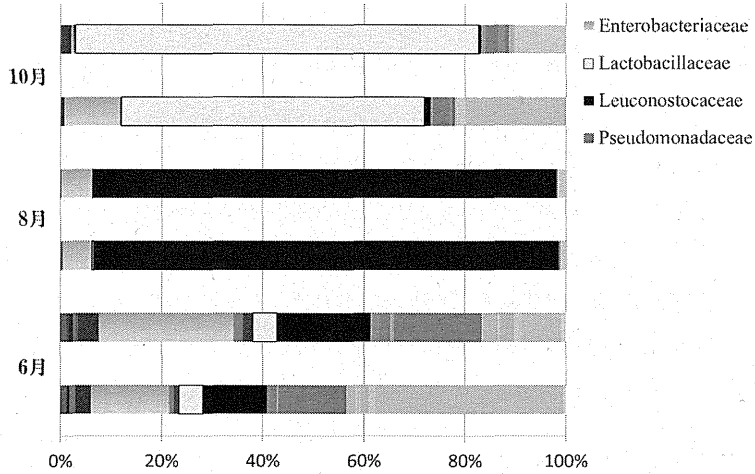


図6.白菜の浅漬けにおけるEHEC O157の添加回収試験

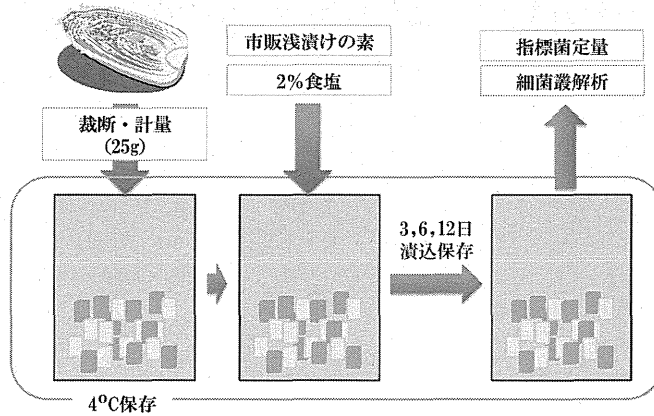


図7. 白菜浅漬けの製造・保存を通じた、指標菌の挙動

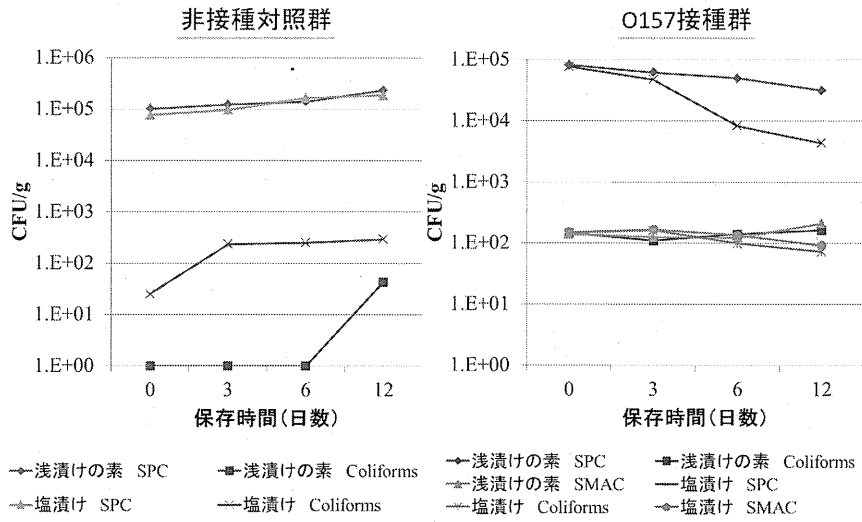
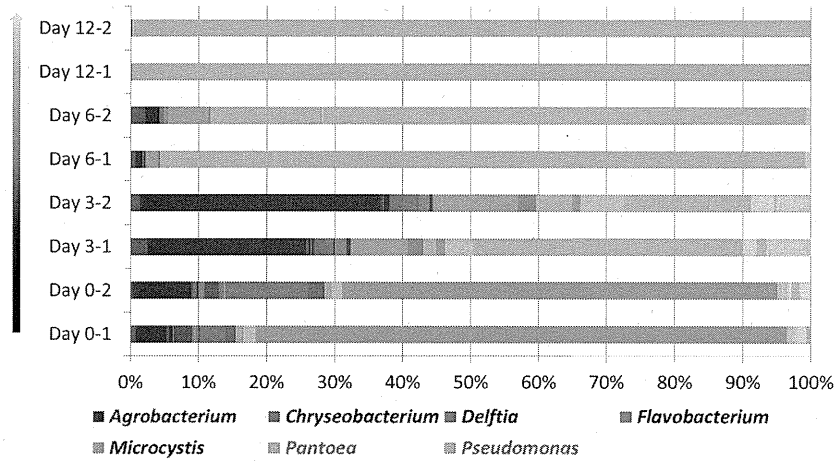
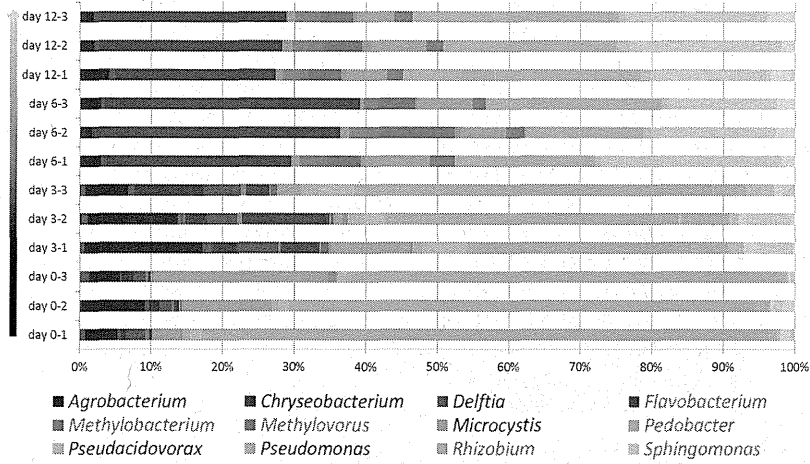


図8. 白菜浅漬(市販漬込液)における細菌叢変動～O157非接種群



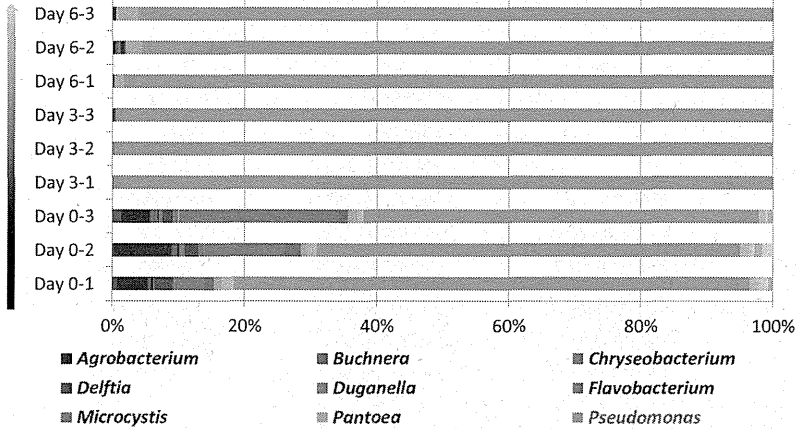
*Pseudomonas*属の初期増加と*Pantoea*属の後期増加等：細菌叢の単純化

図9.白菜浅漬(市販漬込液)における細菌叢変動～O157接種群



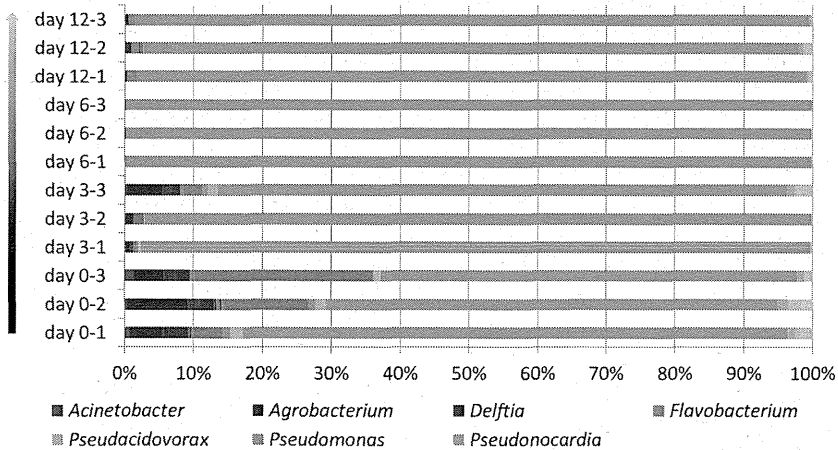
O157非接種時とは異なる変動：*Pseudomonas*属の減少、*Flavobacterium*属の増加等

図10.白菜浅漬(2%食塩)における細菌叢変動～O157非接種群



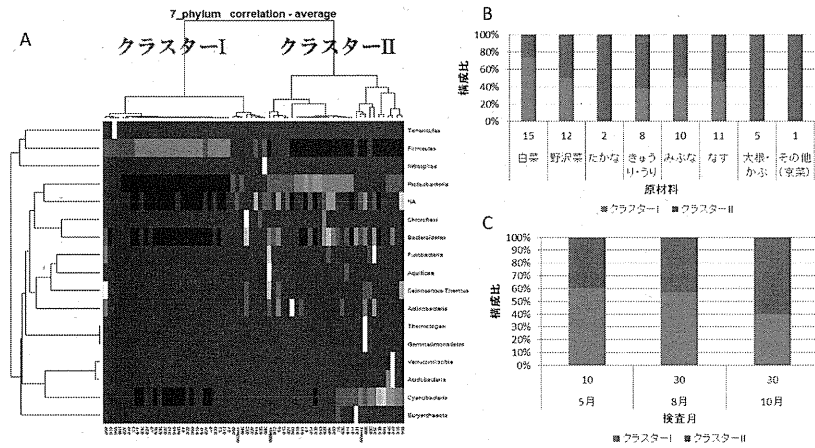
*Pseudomonas*属の顕著な優勢化 + *Pantoea*属の微増

図11.白菜浅漬(2%食塩)における細菌叢変動～O157接種群



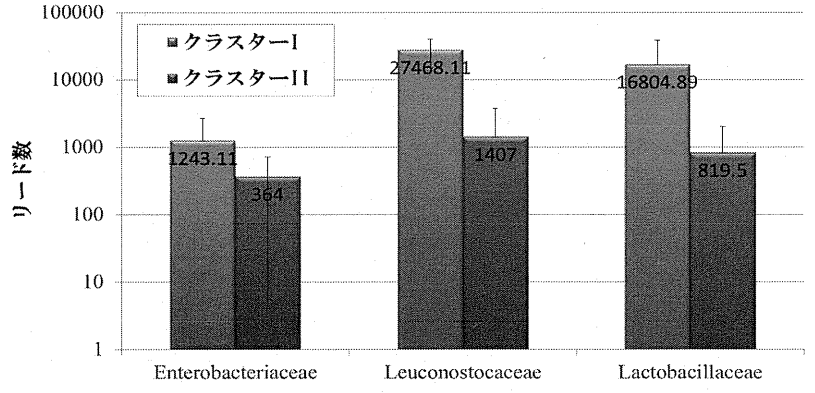
*Pseudomonas*属の顕著な優勢化 + *Citrobacter*, *Flavobacterium*属の微増 (O157非接種時とほぼ同様の変動)

図12. 大阪府下で購入した浅漬け検体の細菌叢クラスター解析



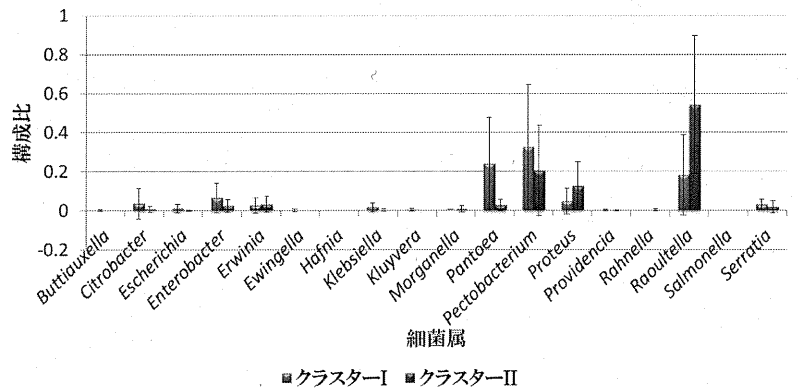
白菜検体は他原材料検体に比べ、クラスタ-Iに分類される割合が高い

図13. クラスタ-I・II間で顕著な構成比に差異を示す細菌科の比較 (比較対象: 白菜の浅漬け)



クラスタ間で腸内細菌科菌群等の構成比率に有意差を示した

図14. クラスタ間での主要腸内細菌科菌群の構成比較



- ① *Pantoea*, *Pectobacterium*, *Raoultella*の3属が主体 (約75%を占める)
- ② *Escherichia*の構成比は、クラスタ間で有意な差異を認めず

腸内細菌科菌群を病原菌汚染指標として用いる意義は高いとはいえない

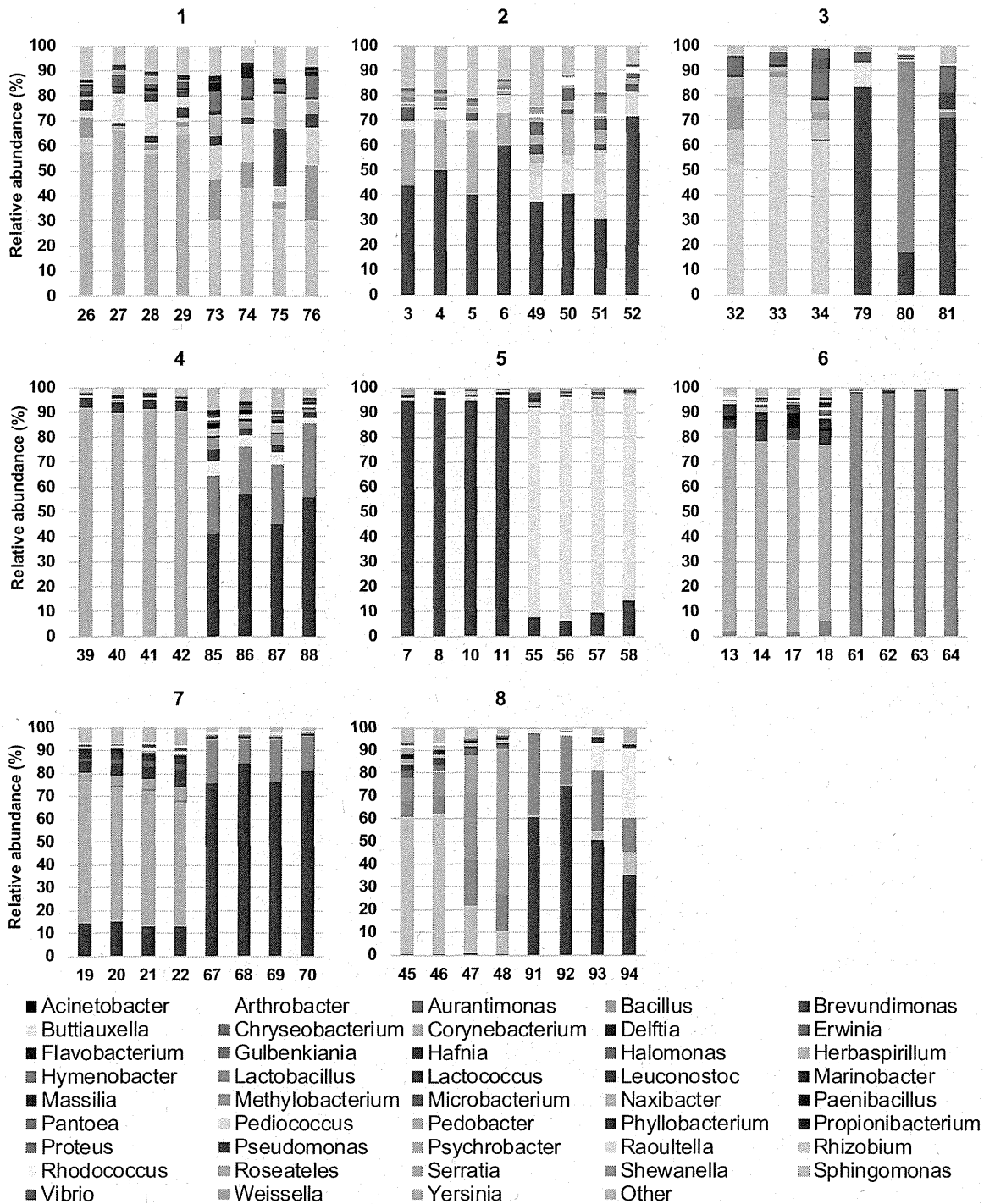


図 15. 衛生規範改正前後間での市販浅漬け製品構成菌叢の比較.

各製品について、衛生規範改正前後で各 3 検体を無作為に抽出し、16s rRNA pyrosequencing 解析に供し、構成菌叢を同定した成績（属レベル）を示す。各製品より上位 15 菌属を比較対象とし、グラフ作成にあたった。

表 1. 衛生規範改正前後間での市販浅漬け製品における衛生指標菌数の比較.

No.	主原料	施設	衛生規範改正前		衛生規範改正後		p 値*
			平均値±SD (CFU/g)		平均値±SD (CFU/g)		
1	白菜	A	4.47E+03	± 1.20E+03	4.25E+03	± 6.60E+02	0.35409
2	白菜	A	1.27E+04	± 1.90E+03	8.31E+03	± 4.88E+03	0.04217
3	胡瓜	A	5.10E+05	± 1.12E+06	3.72E+03	± 5.34E+02	0.16013
4	茄子	A	7.67E+02	± 3.34E+02	3.70E+03	± 8.05E+02	0.00005
5	茄子	A	1.85E+07	± 6.28E+06	1.34E+07	± 2.92E+06	0.05596
6	茄子	B	2.33E+02	± 2.16E+02	6.93E+04	± 7.92E+04	0.04290
7	大根	C	7.81E+03	± 7.70E+03	3.75E+04	± 1.92E+04	0.01100
8	野沢菜	D	1.10E+06	± 1.28E+06	2.90E+06	± 1.74E+06	0.03589
平均菌数(CFU/g) ^μ			2.52E+06	± 6.48E+06	2.05E+06	± 4.57E+06	0.34153

μ 大腸菌群数

No.	主原料	施設	衛生規範改正前		衛生規範改正後		p 値*
			平均値±SD (CFU/g)		平均値±SD (CFU/g)		
1	白菜	A	2.71E+03	± 1.26E+03	1.67E+01	± 4.08E+01	0.00162
2	白菜	A	8.58E+02	± 2.87E+02	2.00E+02	± 3.03E+02	0.00159
3	胡瓜	A	4.03E+02	± 2.50E+02	0.00E+00	± 0.00E+00	0.00541
4	茄子	A	2.00E+02	± 7.07E+01	0.00E+00	± 0.00E+00	0.00048
5	茄子	A	5.97E+03	± 4.27E+03	2.06E+05	± 7.26E+04	0.00054
6	茄子	B	1.26E+02	± 1.99E+02	0.00E+00	± 0.00E+00	0.09153
7	大根	C	1.17E+02	± 7.53E+01	1.67E+01	± 4.08E+01	0.01099
8	野沢菜	D	3.78E+03	± 2.38E+03	5.00E+01	± 5.48E+01	0.00603
平均菌数(CFU/g) ^μ			1.77E+03	± 2.64E+03	2.57E+04	± 7.27E+04	0.01349

μ 乳酸菌数

No.	主原料	施設	衛生規範改正前		衛生規範改正後		p 値*
			平均値±SD (CFU/g)		平均値±SD (CFU/g)		
1	白菜	A	6.25E+05	± 1.96E+05	5.93E+05	± 3.41E+05	0.42258
2	白菜	A	4.00E+05	± 1.95E+05	1.70E+05	± 4.85E+04	0.01660
3	胡瓜	A	5.55E+03	± 2.24E+03	2.50E+02	± 1.05E+02	0.00107
4	茄子	A	1.93E+02	± 9.03E+01	2.83E+02	± 4.31E+02	0.31808
5	茄子	A	4.39E+05	± 3.07E+05	4.40E+06	± 1.41E+06	0.00038
6	茄子	B	8.22E+03	± 1.03E+04	1.65E+05	± 1.43E+05	0.02173
7	大根	C	1.06E+05	± 6.88E+04	7.44E+05	± 2.05E+05	0.00016
8	野沢菜	D	9.52E+05	± 6.88E+05	1.86E+06	± 7.15E+05	0.02398
平均菌数(CFU/g) ^μ			3.17E+05	± 4.22E+05	9.93E+05	± 1.52E+06	0.00227

表 2. 衛生規範改正前後間での、主要乳酸菌構成比率の比較.

No.	主原料	施設	衛生規範改正前		衛生規範改正後		p 値*
			平均値±SD (%)		平均値±SD (%)		
1	白菜	A	3.25E+00	± 2.51E+00	7.94E-01	± 2.57E-01	0.07011
2	白菜	A	4.26E+01	± 1.21E+01	1.65E+01	± 3.63E+00	0.00885
3	胡瓜	A	6.63E-01	± 3.72E-01	8.45E+01	± 9.17E+00	0.00203
4	茄子	A	5.13E-01	± 4.50E-01	7.52E+01	± 8.97E+00	0.00021
5	茄子	A	9.66E+01	± 9.29E-01	1.00E+01	± 3.39E+00	0.00001
6	茄子	B	6.28E+00	± 2.93E+00	9.89E+01	± 5.12E-01	0.00000
7	大根	C	1.92E+01	± 9.20E-01	9.67E+01	± 7.85E-01	0.00000
8	野沢菜	D	3.00E+01	± 2.76E+01	8.03E+01	± 2.18E+01	0.06713
平均値(%)			2.54E+01	± 3.23E+01	5.70E+01	± 4.04E+01	0.00522

*採材時期の違いによる有意差を求めるため、本研究では t 検定を用い、p 値が 0.05 以下の場合を有意差があると判定した (太字で示す)。

細菌・真菌汚染実態に関する研究

浅漬け製造工程における微生物挙動に関する研究

研究分担者	朝倉 宏	国立医薬品食品衛生研究所	食品衛生管理部
研究協力者	梶田 和彌	国立医薬品食品衛生研究所	食品衛生管理部
研究協力者	山本 詩織	国立医薬品食品衛生研究所	食品衛生管理部
研究協力者	五十君 静信	国立医薬品食品衛生研究所	食品衛生管理部

平成24年度に北海道で発生した腸管出血性大腸菌 O157 集団食中毒事例を受けて、平成25年12月には衛生規範の見直しが行われた。当該規範では、特に殺菌工程の明確化がされたところであるが、次亜塩素酸の殺菌効果については様々な議論がなされている。本分担研究では、野菜浅漬けの製造事業者の協力の下、ハクサイおよびキュウリの浅漬けに係る製造工程を検証すると共に、製造工程における中間製品を採取し、細菌汚染実態に関する調査を行った。殺菌処理を通じた一般細菌数および大腸菌群数の挙動としては、それぞれ約 10^1 オーダーおよび 10^2 オーダーの低減を認めた。また、製造施設内の作業台、はかり、包丁等のふき取り検査の結果は良好であった。腸管出血性大腸菌 O157/026/0111、サルモネラ属菌、リステリア・モノサイトゲネスは何れの検体からも分離されなかった。白菜の浅漬け製造ラインより採取した原材料、中間製品（塩漬け後および殺菌後）、最終製品より各2検体を 16s rRNA pyrosequencing 解析に供したところ、各検体の構成菌叢は著しい変動を顕し、特に塩漬け工程での腸内細菌科菌群の著減を認めた。その後の殺菌工程後検体では更にその構成比率は低減を示し、同2工程の導入が、供試製造工程において微生物制御に有効に機能していると考えられた。市販白菜（原材料）を異なる塩濃度で2日間漬け込んだところ、10%食塩を用いた場合に有意な大腸菌群数の低下が認められたが、0, 2%食塩での漬け込みにより同指標菌数は明らかな低下を示さなかった。漬け込み工程における食塩濃度に依存して、*Pseudomonas* 属菌の比率は大きく変動を示した。以上より、本研究で対象とした製造過程においては、原材料から最終製品に至る過程で衛生指標菌の明確な低減が認められ、同過程中の衛生対策が微生物リスク低減に有効に機能していることが示された。

A. 研究目的

平成24年8月に北海道で発生したハクサイの浅漬けを原因食品とする腸管出血性大腸菌 O157 集団食中毒事件を受け、漬物の製造段階における衛生管理に対して、社会的関心が高まりをみせた。平成25年12月には、漬物の衛生規範が改正され、原材料の次亜塩素酸による殺菌または加熱を盛り込むと共に、製造工程管理に係る運営基準または HACCP 導入をもとめることとなった。本研究では、同衛生規範が改正された後の平成26年2月下旬にある製造事業者をモデルケースとして捉え、製造工程を通じた衛生状況の確認を衛生指標菌及び病原菌の検出試験ならびに構成菌叢変動に関する諸検討を行い、同規範の適切性を実証することとしたので報告する。

B. 材料と方法

1. 検体採取

平成26年2月に神奈川県内の浅漬け製造事

業者の協力を得て、同製造施設内でハクサイおよびキュウリの浅漬け工程中より、中間製品および施設ふき取り検体を採取した。計36検体について、指標菌の定量検出および主要病原細菌の検出試験に供した。製造ラインの概要および各製造過程の概要は、図1-3に記した。

2. 衛生指標菌定量試験

各検体より無菌的に25gを採材し、約3x3cm角に細断後、緩衝ペプトン水225mlを用いて懸濁溶液を作成した。同懸濁液100 μ lを標準寒天培地 (Oxoid)、VRBL寒天培地 (Oxoid) およびTBX寒天培地にそれぞれ2枚ずつ、スパイラルプレーター法により塗布し、一般細菌数、大腸菌群数、 β -グルクロニダーゼ産生大腸菌菌数を求めた。施設拭取り検体については懸濁原液を同様に試験に供した。

3. 各種病原細菌の検出

腸管出血性大腸菌 O157/026/0111 の検出は、「腸管出血性大腸菌 O26、O111 及び O157 の検査法について」（平成24年12月17日付、食安

監発 1217 第 1 号) によった。また、サルモネラ属菌およびリステリア・モノサイトゲネスの検出は、ISO6579:2002 および ISO11290:1997 に準じて行った。

4. 構成菌叢解析

各検体より DNA 抽出後、PCR により 16s rRNA 部分領域を増幅した。E-gel および AMPure XP を用いて、増幅断片を精製した後、各検体を等量混合してライブラリーを作成した。同ライブラリーは Ion PGM シーケンサーを用いて解析を進め、得られた配列は、CLC Genomic workbench でトリムを行い、Local blast 検索を行うことで、各検体の構成菌叢に関するデータを取得した。

5. 塩漬けに伴う指標菌及び菌叢動態解析

市販の生鮮白菜を購入し、おにつばを除去後、十分量の水道水で 2 回洗浄し、同野菜を 25g づつに裁断した。225ml の食塩水 (0, 2, 10%) に加え、15°C で 3 日間漬け込みを行った。漬け込み後の検体を、食塩水より取り出し、225ml の緩衝ペプトン水中にて懸濁後、同懸濁液を用い、指標菌 (一般細菌数及び大腸菌群数) の測定および菌叢解析を実施した。

C. 研究結果

1. ハクサイ・キュウリ浅漬け製品の製造過程における衛生指標菌の挙動成績

平成 26 年 2 月下旬に、神奈川県内の浅漬け製造事業者の協力を得て、同製造施設内でハクサイおよびキュウリの浅漬け製品の中間製品および施設内ふきとり検体を採取した。同施設内での製造過程に関する概要は図 1-3 に記した通りである。以下に製品別に指標菌の検出状況を報告する。なお、何れの検体も β -グルクロニダーゼ産生大腸菌は陰性であった。

① ハクサイの浅漬け

ハクサイ浅漬け製品は、原材料を半割りし、2~5 日間 10% 食塩水中で塩漬後、殺菌工程に供されていた (図 1、2)。工程別に指標菌数変動を比較したところ、原材料では一般細菌数が $4.79E+04CFU/g$ 、大腸菌群数が $2.99E+03CFU/g$ であったのに対し、塩漬後の中間製品では一般細菌 $4.00E+03CFU/g$ 、大腸菌群数が $3.33E+02CFU/g$ とそれぞれ約 10^1 オーダーの低減を示した。引き続き次亜塩素酸 Na を用いた殺菌工程を通じ、両菌数はそれぞれ $8.87E+03CFU/g$ 及び $8.75E+01CFU/g$ へ低減した (表 1)。刻み・計量・包装工程を経た最終製品では一般細菌数が $5.47E+03CFU/g$ 、大腸菌群は陰性を示した (表 1)。

② キュウリの浅漬け

今回供試したキュウリの浅漬け製品については、原材料を裁断せずに殺菌、漬込み、化粧糖をつけて生産されていた (図 1、3)。原材料では一般細菌数が $2.94E+05CFU/g$ 、大腸菌群数が $2.43E+03CFU/g$ 、殺菌工程直後の同菌数は、それぞれ $1.29E+04CFU/g$ および $1.67E+01CFU/g$ であった (表 2)。その後の調味液中での 2 日

間の漬込みを通じ、一般細菌数は若干の増加傾向を示した ($4.33E+03CFU/g$) が、大腸菌群は陰性であった (表 2)。最終製品の一般細菌数・大腸菌群数は概ね同様で、それぞれ $3.83E+03CFU/g$ および $5.00E+01CFU/g$ であった (表 2)。なお、最終製品については化粧糖が付着していたが、通常、喫食前に水道水で表面を洗浄して化粧糖を洗い落とすと想定されたため、当該検体は、水道水で洗浄し化粧糖を洗い落とした後に、菌数の定量に供した。

2. 主要病原細菌の検出状況

主要病原細菌として腸管出血性大腸菌 O157/026/0111、サルモネラ属菌、リステリア・モノサイトゲネスを対象に、供試検体からの検出を試みた。

① ハクサイの浅漬け

ハクサイの浅漬け関連検体のうち、増菌培養液を用いて、ベロ毒素 (VT) 遺伝子の検出を行った。原材料・塩漬後検体の一部は疑陽性反応を示した。しかしながら、分離培養により典型集落は認められず、供試検体は腸管出血性大腸菌 O157/026/0111 陰性と判定された。サルモネラ属菌およびリステリア・モノサイトゲネスについても同様に全ての検体で陰性を示した。

③ キュウリの浅漬け

キュウリの浅漬け関連検体のうち、上述と同様に、キュウリ原材料および殺菌後の検体の一部で、VT 遺伝子陽性が認められたが、分離培養によって最終的に EHEC O157/026/0111 は陰性と判定された。サルモネラ属菌及びリステリアについても全てで陰性を示した。

3. 白菜浅漬けの製造工程における菌叢変動

白菜浅漬け製造ラインでの原材料、中間製品 (塩漬後、殺菌後) および最終製品検体より、各 2 検体を無作為に抽出し、菌叢解析に供した。最終的に、18361-104969 リードが得られ、77 科 194 属が検出された。以下に代表的な菌属に関する工程中の動態を記述する。

(1) *Pseudomonas* 属

Pseudomonas 属は全検体中の 28.2% と最も高い占有率を占めた (図 4)。本属の構成比率は、塩漬工程で著しく減少したものの、殺菌後は再び上昇傾向を認め (11%)、最終製品での構成比率は約 5.7% であった (図 4)。

(2) *Leuconostoc* 及び *Rhizobium* 属

当該菌属は、塩漬後、それぞれ 33.5% 及び 26.2% の構成比率を示した一方、他の工程ではいずれも 5% 以下であった (図 4)。これらの菌属は、葉物野菜から高頻度に検出されることが知られている他、10% 以上の食塩を含む、キムチ等の発酵食品からも検出されることが知られている。

(3) *Pedobacter* 属

殺菌工程後の検体からは、*Pedobacter* 属が高頻度 (43.9%) に検出された (図 4)。本属は、主に植物の根部に棲息することが知られてい

るが、ある学術報告では殺菌後のレタス表面から検出されている。本研究における成績は、殺菌工程が野菜表面に付随する細菌の多くを制御することで、白菜内部に侵入・生息していた本属菌の競合的増殖を助長したものと推測される。

(4) *Microcystis* 属

Microcystis 属は、最終製品より最も高頻度 (39.8%) に検出された (図 4)。本属菌は、低温抵抗性を示すことが知られているため、包装後、低温下に保存される最終製品中でも一定数が保持されていると考えられる。

(5) *Escherichia* 及び *Enterobacter* 属

当該菌属の構成比率は、最終製品中でそれぞれ 0.04% および 0.02% であった (図 4)。大腸菌群は最終製品から分離培養されていなかったため、本成績は死菌由来核酸のわずかな混入によるものと考えられた。

4. 白菜由来菌叢は塩濃度依存性の変動を示す

Pseudomonas 属菌の構成比率変動と塩漬け込みとの関連性が示唆されたことを受けて、生鮮白菜を原材料として 0、2、10% 食塩水中で 3 日間の漬け込み工程を再現し、同工程前後での菌叢及び指標菌数動態を比較することとした。

一般細菌数は食塩濃度に関わりなく、漬け込み前後で顕著な差異を示さなかったが、大腸菌数は、10% 食塩水漬け込み群においてのみ、漬け込み前検体に比べ、有意な菌数低減を認めた (図 5)。菌叢解析を通じて、10% 食塩漬け込み群では、*Pantoea* 属構成比率が顕著に減少した (図 6)。上述のパイロットスタディにおいて最も優勢な構成比率を示した *Pseudomonas* 属は、食塩濃度の上昇に伴い、構成比率が高まる傾向を示した (図 6)。

以上の成績より、食塩濃度は漬け込み工程における原材料由来の菌叢を左右する重要な決定因子であると共に、同工程は殺菌工程と併せて、浅漬け製造での病原微生物制御に寄与する工程であることが定量的に実証された。

D. 考察

平成 25 年 12 月に改正された漬物の衛生規範では、殺菌工程に関する明文化がなされた。すなわち、原材料の製造にあたっては、次亜塩素酸 Na 100ppm で 10 分もしくは 200ppm で 5 分以上の殺菌条件が盛り込まれ、腸管出血性大腸菌をはじめとする病原微生物の汚染制御に資すると目される対策がなされているところである。しかしながら、野菜や果実には、乳肉製品に比べて、多様な微生物叢が含まれており、それらの相互作用や、局在 (分布) の多様性等も相まって、塩素消毒の有効性を実証するには、製造現場での検証作業が必要と考えられた。こうした背景を元に、本研究では、ハクサイおよびキュウリの浅漬けを対象として、それらの製造過程を通じた衛生指標菌および主要病原細菌の挙動を捉え、現行の製造基準に関する衛生

学的知見を収集することとした。

衛生指標菌の検出結果は、いずれの製品についても、概ね殺菌工程が有効に作用していることを示していた。ハクサイの浅漬けについては、協力製造事業者では、殺菌工程に先立ち、塩漬け工程を自主的に加えることで、その後の塩素殺菌効果の向上と、食塩による主要病原細菌の生存抑制を果たしていた。本研究において認められた指標菌の定量結果は、その目標達成を概ね裏付けるものであった。同工程を通じた構成菌叢の変動については、興味深く更なる検討が必要と考える。

また、病原細菌としては、殺菌前の検体の一部で VT 遺伝子が検出されたが、最終的に EHEC の主要血清型 (0157/026/0111) については陰性と結論付けられた。培養液より他血清型の EHEC 分離も試みたが該当菌株は分離されなかった。原材料等には EHEC を含め腸管病原細菌の付着も懸念されるが、野菜等における汚染菌数は食肉製品のそれに比べ相対的に少ないと想定される。遺伝子スクリーニングの成績から、極めて少数の非 0157/026/0111 血清型の EHEC もしくは一次的に VT 遺伝子を保有する類縁菌の汚染可能性を否定することはできない。

製造工程における指標菌動態の原因を探るべく行った菌叢動態解析により、原材料由来細菌制御にあたり、塩漬け工程において望ましい食塩濃度に関する知見を得た。同知見は、その後の水洗浄工程を経て、最終食塩濃度が約 2% 前後に調節できることを考えると、衛生管理上での実効性を伴う応用制御手法と考えられ、昨今の減塩嗜好にも対応できるものと思われる。加えて、殺菌工程後の中間製品に係る構成菌叢は腸内細菌科菌群の比率を低減させる上で有効に機能していると想定される結果を得た。

E. 結論

ある浅漬け製造事業者の協力の下、ハクサイ・キュウリの浅漬け製造過程における衛生指標菌および主要病原細菌の検出状況を確認した。衛生指標菌は殺菌工程前後で顕著な低減を示し、最終製品の安全性確保に寄与していると想定された。菌叢解析を通じ、伝統的な塩漬け工程は原材料における病原細菌の汚染制御に有効に機能していること、次亜塩素酸を用いた殺菌工程は、大腸菌群等の病原細菌の低減に寄与していることが明らかとなり、両工程の併用は、浅漬け製品の微生物危害を予防するための応用的な制御手法と考えられた。以上より、現行の衛生規範は微生物リスク低減に有効に機能していることが実証された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Masuda K, Yamamoto S, Kubota K, Kurazono

H, Makino S, Kasuga F, Igimi S, Asakura H.
Evaluation of the dynamics of
microbiological quality in lightly pickled
napa cabbages during manufacture. J Food
Safety. 35: 458-465. (2015)

2. 学会発表

高鳥浩介、朝倉宏. 農産物の生食のリスクとその
制御. 第41回日本防菌防黴学会年次大会
シンポジウム.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
なし

図1. 浅漬け供試製品に係る製造工程流れ図

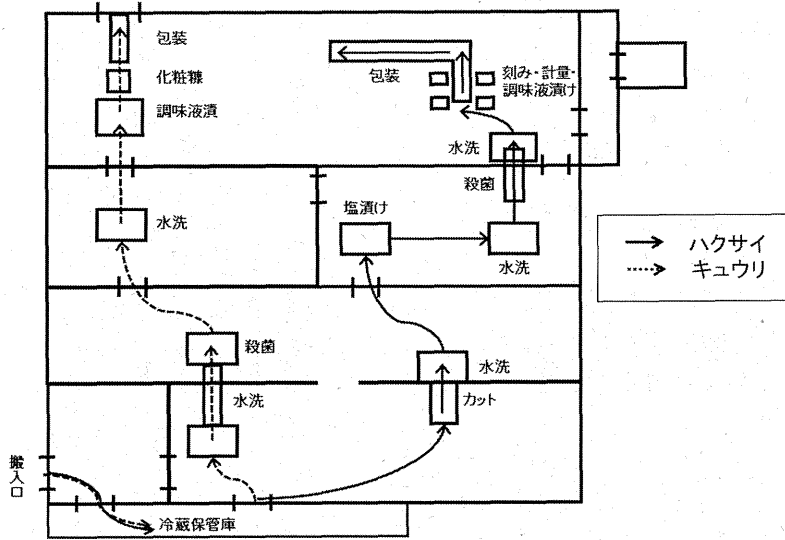


図2. ハクサイ浅漬けの製造工程概要と採取検体

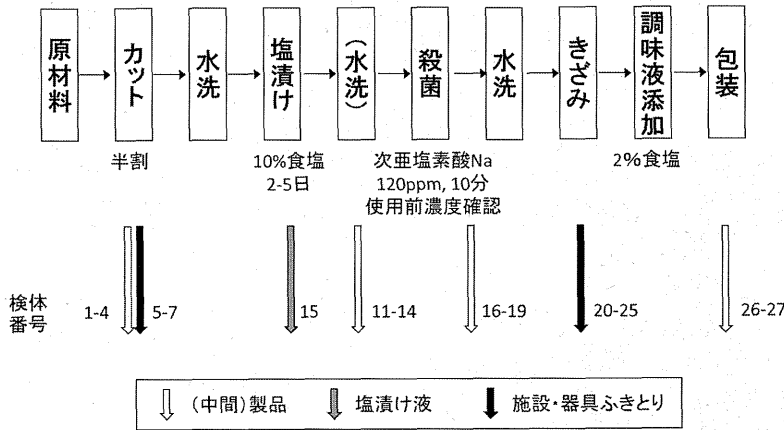
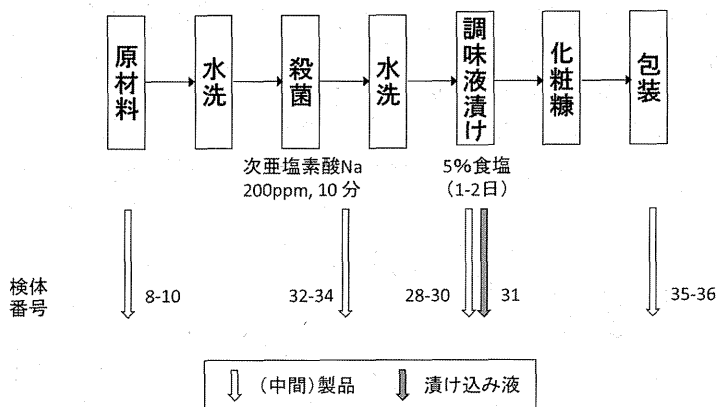


図3. キュウリ浅漬けに係る製造工程概要と採取検体



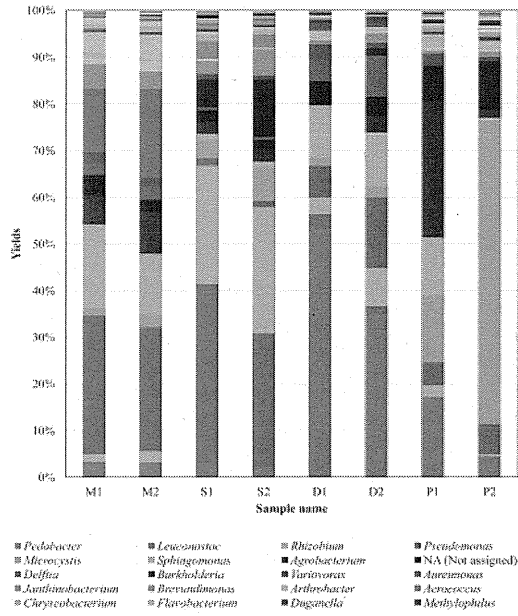


図 4. 白菜浅漬の製造工程を通じた菌叢変動

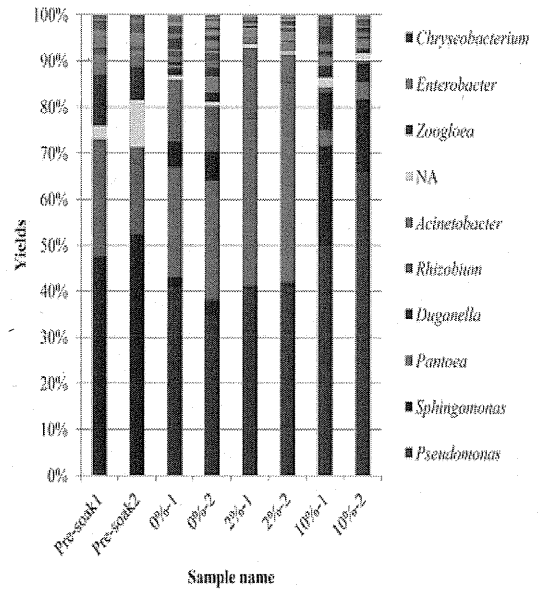


図 6. 異なる食塩濃度で漬込みを行った際の白菜由来菌叢の変動

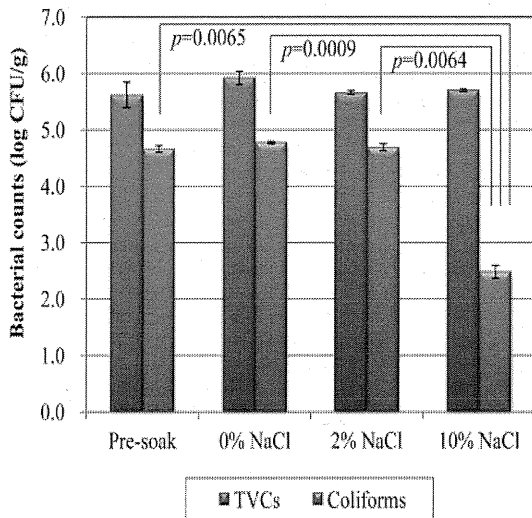


図 5. 異なる食塩濃度で漬込みを行った際の白菜由来指標菌数の変動

表1. はくさい浅漬け製品の製造工程における衛生指標菌検出状況

検体番号	工程	ロット	指標菌検出数(CFU/g・ml・cm ²) (右欄: 平均値)						
			SPC	Coliforms	β-Glu(+) <i>E.coli</i>				
1			9.67E+04		8.30E+03	0			
2	原材料(カット後)	ロットA	1.52E+04	4.79E+04	3.05E+03	2.99E+03	0		
3			7.30E+04		2.50E+02		0		
4			6.92E+03		3.50E+02		0		
5			3.50E-01		1.00E-01		0		
6	カット作業台	ロットA	5.00E-02	1.50E-01	0.00E+00	3.33E-02	0		
7			5.00E-02		0.00E+00		0		
11			6.30E+03		0.00E+00		0		
12	塩漬け後水洗	ロットB	5.35E+03	4.00E+03	0.00E+00	5.00E+01	0		
13			1.95E+03		0.00E+00		0		
14			2.40E+03		2.00E+02		0		
15			7.01E+04		7.01E+04		0.00E+00	0.00E+00	0
16	殺菌後	ロットB	1.24E+04	8.87E+03	0.00E+00	8.75E+01	0		
17			3.00E+03		0.00E+00		0		
18			1.28E+04		0.00E+00		0		
19			7.32E+03		3.50E+02		0		
20			2.50E+00		3.70E+00		0.00E+00	0.00E+00	0
21	きざみ(まな板1)	ロットB	4.90E+00	6.91E+00	0.00E+00	0.00E+00	0		
22			6.91E+00		0.00E+00		0		
23			9.95E+00		0.00E+00		0		
24			0.00E+00		0.00E+00		0		
25			1.05E+00		1.05E+00		0.00E+00	0.00E+00	0
26			5.30E+03		5.47E+03		0.00E+00	0.00E+00	0
27	5.64E+03	0.00E+00	0.00E+00	0					

* ふき取り検体(CFU/cm²)・使用后塩漬け液(CFU/ml)については、それぞれ黒色もしくはグレー色背景で示す。

表2. きゅうり浅漬け製品の製造工程における衛生指標菌検出状況

検体番号	工程	ロット	指標菌検出数(CFU/gまたはml) (右欄: 平均値)				
			SPC	Coliforms	β-Glu(+) <i>E.coli</i>		
8			4.80E+05		0.00E+00	0	
9	原材料	ロットA	2.54E+05	2.94E+05	0.00E+00	2.43E+03	0
10			1.50E+05		7.30E+03		0
32			2.55E+03		5.00E+01		0
33	殺菌洗浄後	ロットA	3.02E+04	1.29E+04	0.00E+00	1.67E+01	0
34			6.05E+03		0.00E+00		0
28			2.00E+02		0.00E+00		0
29	調味液漬け	ロットB	0.00E+00	4.33E+03	0.00E+00	0.00E+00	0
30			1.28E+04		0.00E+00		0
31			3.50E+02		3.50E+02		0.00E+00
35	最終製品	ロットB	3.80E+03	3.83E+03	5.00E+01	5.00E+01	0
36			3.85E+03		5.00E+01		0

* 使用后漬け込み液の成績(CFU/ml)については、グレー背景で示す。

平成25-27年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
非動物性の加工食品等における病原微生物の汚染実態に関する研究
分担総合研究報告書
細菌・真菌等の汚染実態に関する研究
国内における漬物の生産・流通実態に関する情報収集

研究分担者 朝倉 宏 国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部
研究協力者 倉園久生 帯広畜産大学 畜産学部 共同獣医学課程
研究協力者 牧野壮一 京都聖母女学院短期大学

研究要旨: 漬物の種類は全国漬物協会では、漬物を塩漬け、糠漬け、粕漬け、醤油漬け、酢漬け、味噌漬け、からし漬け、麴漬け、および諸味漬けの9種に分類している。諸外国ではピクルスやサワークラウトと称する漬物がある。漬物は製造過程で発酵微生物の影響を受けるものと、ほとんど受けないものがあり、発酵微生物の影響を受けるものは長期の塩漬け、糠漬け、味噌漬け、発酵ピクルスおよびサワークラウトである。漬物における微生物の作用は有用面と有害面がある。有用面は乳酸の生成による防腐、佳味、風味の付与である。有害面は酸敗、酪酸臭の発生、発黴、組織の軟化、退色や変色などの腐敗・変敗である。さらに腸管出血性大腸菌、リステリア、赤痢菌などの有害微生物の汚染も大きな問題となっている。漬物由来の食中毒を防止するためには漬物衛生規範が定められているが、漬物の現状を先ず把握しておく必要がある。そこで、漬物に関する情報を取り纏めた。

A. 研究目的

漬物の種類は全国漬物協会では、漬物を塩漬け、糠漬け、粕漬け、醤油漬け、酢漬け、味噌漬け、からし漬け、麴漬け、および諸味漬けの9種に分類している。諸外国ではピクルスやサワークラウトと称する漬物がある。漬物は製造過程で発酵微生物の影響を受けるものと、ほとんど受けないものがあり、発酵微生物の影響を受けるものは長期の塩漬け、糠漬け、味噌漬け、発酵ピクルスおよびサワークラウトである。漬物における微生物の作用は有用面と有害面がある。有用面は乳酸の生成による防腐、佳味、風味の付与である。有害面は酸敗、酪酸臭の発生、発黴、組織の軟化、退色や変色などの腐敗・変敗である。さらに腸管出血性大腸菌、リステリア、赤痢菌などの有害微生物の汚染も大きな問題となっている。漬物由来の食中毒を防止するためには漬物衛生規範が定められているが、漬物の現状を先ず把握しておく必要がある。そこで、漬物に関する情報を集めまとめた。

B. 研究方法

種々の報告書から漬物情報を収集した。

C. 研究結果および考察

1. 漬物の定義

漬物: 通常、副食物として、そのまま摂食される食品であって、野菜、果実、きのこ、海藻等(以下「野菜等」という。)を主原料として、塩、しょう油、みそ、かす(酒粕、みりんかす)、こうじ、酢、ぬか(米ぬか、ふすま等)、からし、もろみ、その他の材料に漬け込んだものをいう。これらは、漬け込み後熟成させ、塩、アルコール、酸等により保存性をもたせたもの(ただし、熟成後調味のための加熱工程のあるものを除く。)と浅漬(一夜漬ともいう。生鮮野菜等(湯通しを経た程度のもを含む。)を食塩、しょう油、アミノ酸液、食酢、酸味料等を主とする調味液、又は、酒粕、ぬか等を主材料とする漬床で短時日漬け込んだもので、低温管理を必要とするもの。以下同じ。)のように保存性に乏しいものに分類される。

(1)塩漬: 野菜等を前処理した後、塩を主とした

材料で漬け込んだものをいう。

- (例)らっきょう塩漬、つぼ漬、しょうが塩漬、梅干、梅漬、白菜漬、高菜漬、広島菜漬、野沢菜漬等。
- (2)しょう油漬:野菜等を前処理した後、しょう油を主とした材料に漬け込んだものをいう。
(例)福神漬、割干漬、しば漬、しょうがしょう油漬、山菜しょう油漬、朝鮮漬、高菜漬、広島菜漬、野沢菜漬、松前漬等。
- (3)みそ漬:野菜等を前処理した後、みそを主とした材料に漬け込んだものをいう。(例)山菜みそ漬、大根みそ漬等。
- (4)かす漬:野菜等を前処理した後、かすを主とした材料に漬け込んだものをいう。(例)奈良漬、山海漬、わさび漬、野菜わさび漬、しょうがかす漬、セロリーかす漬等。
- (5)こうじ漬:野菜等を前処理した後、こうじを主とした材料に漬け込んだものをいう。(例)べったら漬、三五八漬等。
- (6)酢漬:野菜等を前処理した後、食酢、梅酢又は有機酸を主とした材料に漬け込んだもので、pH4.0 以下のものをいう。(例)千枚漬、らっきょう漬、はりはり漬、梅酢漬、はじかみ漬等。
- (7)ぬか漬:野菜等を前処理した後、ぬかを主とした材料に漬け込んだものをいう。(例)みずなぬか漬、たくあん漬等。
- (8)からし漬:野菜等を前処理した後、からし粉を主とした材料に漬け込んだものをいう。(例)なすからし漬、ふきからし漬等。
- (9)もろみ漬:野菜等を前処理した後、しょう油又はみそのもろみを主とした材料に漬け込んだものをいう。(例)こなすもろみ漬、きゅうりもろみ漬等。
- (10)その他の漬物:(1)~(9)以外の漬物(乳酸はっ酵したものを含む。)をいう。(例)すんき漬、サワークラウト等。

2. 漬物の生産量

①年次別の野菜の生産量(図1)では、野菜・果実の漬物の平成になってからの生産量は1,200,000トンから700,000トンまで減少していた。健康志向の影響が考えられ、塩漬種類の減少が激しく、逆に量は多くはないが、

酢漬の生産量が上昇傾向にあった。

- ②平成23年と24年の月別生産量を比較すると、年末から4月にかけて増加傾向にあった。一般的に夏に食中毒が増加するが、漬物生産量は平成24年度は夏の時期が低くなっていた。北海道で発生した漬物による食中毒の発生と関係があるものと思われる。
- ③漬物の生産地と生産量、出荷金額を比較すると、図3および表1に示すように、和歌山県が最も多く、次いで愛知、長野、群馬が続く、次いで、新潟、京都、神奈川、東京と続く。一般的に、農産物の生産地と漬物産地が一致する傾向にはあるが、特産物で有名な地域が比較的上位になっている。同県内の漬物の関連業者数(生産だけではなく販売店の数も含める)別では表2のように、日高郡みなべ町と田辺町が70%を占めていた。それらの生産商品のほとんどは梅漬関係であった。また、都道府県別で二番目となった長野県では表3に示す4都市で県内生産量の約半数を占めており、その内容としては、野沢菜が主体であった。
- ④漬物の原材料を比較する目的で、一世帯当たりの漬物の消費量を月別で調べたデータを図5に、漬物の月別の値段の推移を示す。ダイコンを使用した漬物の消費量が最も高く、前述したように平成24年度は浅漬けによる食中毒が注目された年のため、夏の消費量が減少したものと見える。浅漬けの主原料となる白菜の漬物の落ち込みは、同年8月7日に札幌で食中毒が発生したのが原因であるようだ。一方、値段は正月にかけて上昇する傾向がみられたが、比較的安定していた(図6)。
- ⑤地域ごとの漬物の特徴を表に示した。地域名と代表的な漬物名および製造を簡単に示した。また、漬物工場の原材料仕入れ量を比較すると、1996年度のデータではあるが、ダイコンが約半分、次にキュウリ、白菜、梅、ナス、白瓜、キャベツ、ニンジン、たけのこと続き上位3種類で、約85%を占めていた。この傾向は毎年変わらず、平成24年度のダイコン、白菜、キャベツ、キュウリの地方別の出荷

量を図 7～10 に示した。また、図 11 では、出荷量の多い野菜を上位 8 種類示した。

D. 参考資料

1. (社)食品需給研究センター「食品製造業の生産動向調査より漬物生産量」
2. 経済産業省「工業統計」各県別漬物のお荷金額
3. 総務省「家計調査」1 世帯あたりの漬物支出金額等
4. 食安監発 1012 第1号 漬物の衛生規範の改正等について
5. 農林水産省 平成 24 年産野菜生産出荷統計

図1. 漬物の生産量(年次経過)

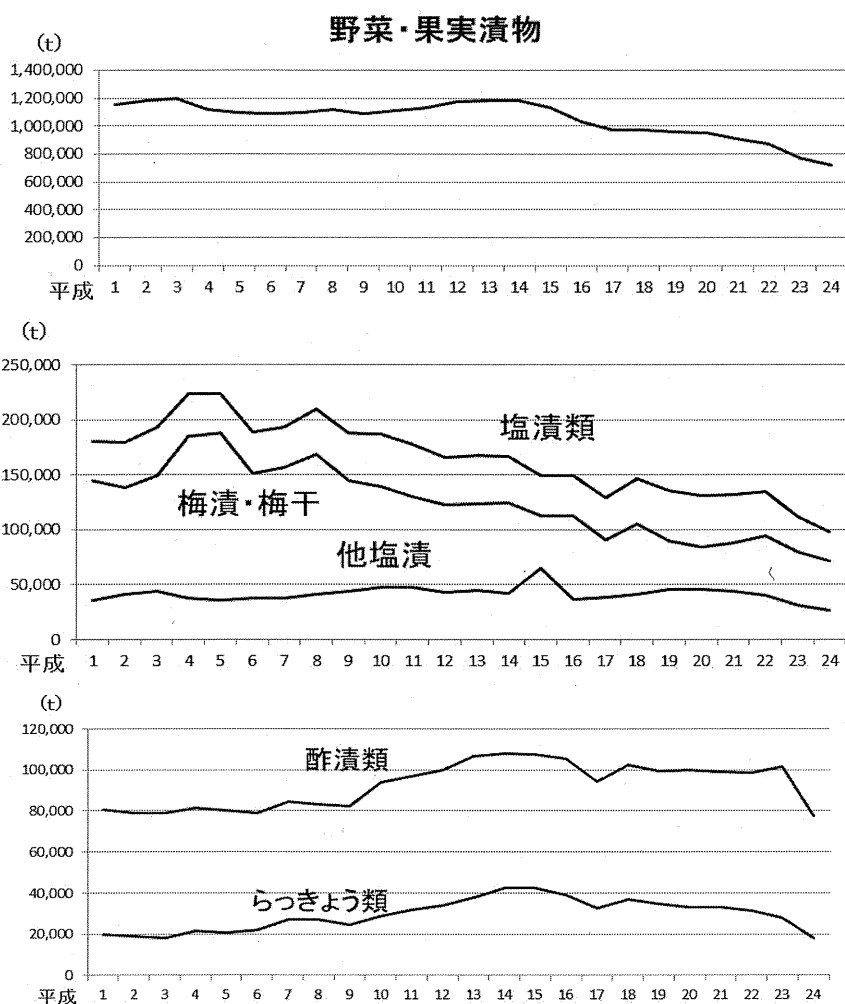


図2. 平成23, 24年度月別漬物生産量

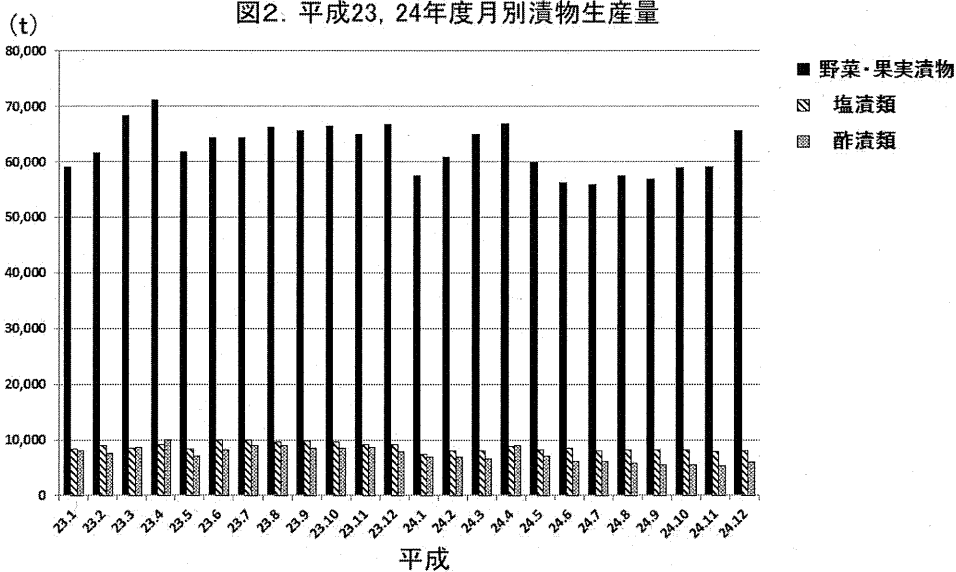


図3. 地方別野菜漬物(果実漬物を含む)の出荷金額

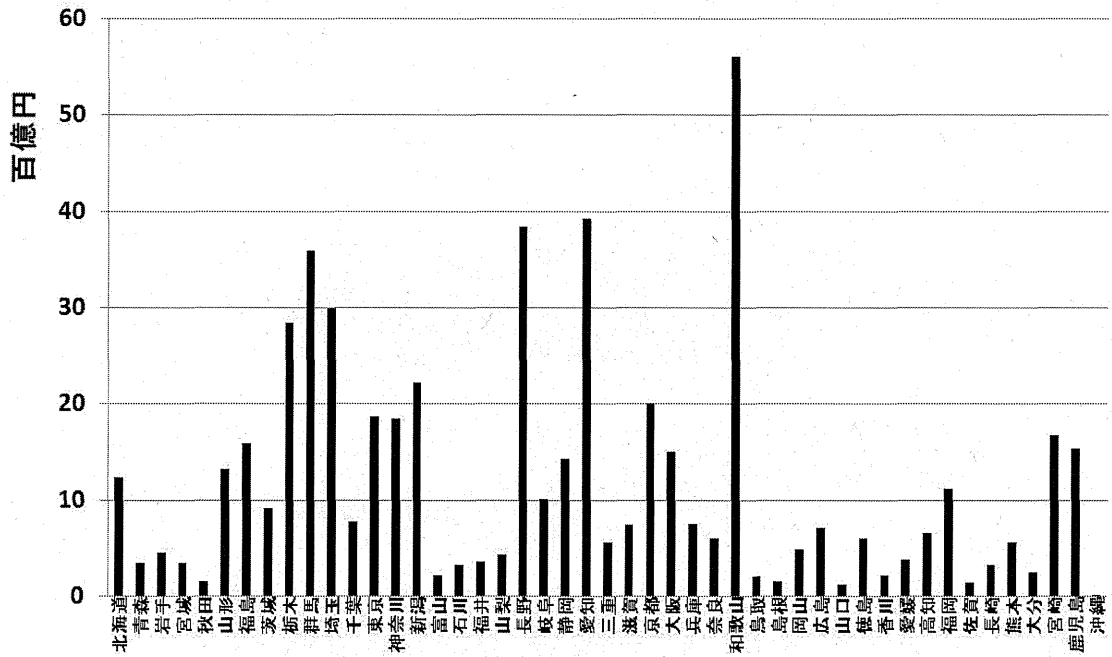


図4. 全国漬物関連業者数の比較

