

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

細菌汚染実態に関する研究

市販浅漬け食品における細菌汚染実態と衛生指標菌に関する研究

研究代表者	朝倉 宏	国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部
研究分担者	田口真澄	大阪府立公衆衛生研究所 感染症部 細菌課
研究協力者	榊田和彌	国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部
研究協力者	吉村昌徳	日本冷凍食品検査協会関西事業所
研究協力者	須田貴之	日本食品分析センター大阪支所
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	橋 理人	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
研究協力者	小西良子	麻布大学 生命・環境科学部
研究協力者	倉園久生	帯広畜産大学 畜産衛生学専攻
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

研究要旨：国内に流通する浅漬け製品については、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、衛生規範の見直しが行われたところである。乳肉製品とは異なり、野菜や果実を原材料とする食品には、土壌や水等に由来する様々な微生物叢が含まれることが経験的には知られているが、乳肉製品に比べて病原微生物の汚染実態に関する定量的な知見には乏しい。本研究では、国内（関東）に流通する浅漬け製品を対象として、FAO/WHO の提唱する、野菜・果実類への汚染リスクの懸念される代表的な病原微生物（腸管出血性大腸菌、サルモネラ属菌、*Listeria monocytogenes*）と共に、衛生指標菌として一般細菌、大腸菌群、 $\beta$ -グルクロニダーゼ産生性大腸菌の定量検出を試みた。更に、供試検体の構成細菌叢を 16S rRNA をターゲットとするメタゲノム解析を通じて、原材料や季節等との関連性について考察した。平成25年6月～10月の間に収集した計66検体は、上記病原細菌陰性であった。指標菌数として、 $\beta$ -グルクロニダーゼ産生性大腸菌は同じく陰性であったが、検体1gあたりの一般細菌数および大腸菌群数の平均値は、それぞれ  $2.27 \times 10^6$ 、 $6.32 \times 10^4$  であった。白菜浅漬け検体では、同指標菌数は夏季に上昇傾向が認められた。メタゲノム解析を通じ、構成細菌叢は概ね原材料別に分類され、当該食品の衛生管理向上には、原材料別の対策設定が有効と目された。また、白菜検体では夏季に *Leuconostoc* 科が全体の90%以上を占め、指標菌数の季節性変動との関連性が示唆された。白菜浅漬けの実験的製造・保存試験を通じ、多数の接種 O157 が同検体内で長期的に生残すること、塩漬けにより構成細菌叢は単純化される傾向を示すこと等が明らかとなった。以上の知見を踏まえ、浅漬け食品の衛生管理には、原材料や漬込液の性状、保存期間等を踏まえた対策が有効と考えられた。

衛生規範の改正前後に市販された同一の浅漬け計8製品について、衛生指標菌数及び構成細菌叢に関する比較検討を行ったところ、大腸菌群数については概ね改正後に有意な大腸菌群数の低下と乳酸菌数の増加を認めた。大腸菌は何れも陰性を示した。菌叢解析より、計6製品は改正後において *Roseateles* 属菌の構成比率に明瞭な減少を認めると共に、4製品では改正後に *Leuconostoc* 属菌の構成比率の上昇を認める等、改正前後で構成細菌叢の顕著な変動を示す製品が多数を占めた。衛生規範改正を通じ、1製品は大腸菌群数の増加を示したが、優勢菌叢が *Leuconostoc* 属より *Buttiauxella* 属へと変動を認めたためと推察された。本比較解析より、衛生規範改正に伴い、供試製品の細菌学的衛生状況は改善されたことが実証された。また、大腸菌群には複数の植物性常在菌叢が含まれることから、浅漬け等、原材料由来菌叢を包含する非動物性食品の衛生指標としては望ましくはなく、大腸菌等がこれに代わり得るものと想定された。

A. 研究目的

腸管出血性大腸菌やボツリヌス菌等、毒素産生微生物の中には人命を脅かすものが少なくない。これ迄の対策は主に動物性食品で進められてきたが、近年では漬物や容器包装詰低酸性食品等に起因する食中毒事例が相次いでおり、汚染実態を把握し、食の安全確保に必要となる基

礎的知見を集積することが求められている。

上記食品に関連する O157 等食中毒の危害評価は必要不可欠であるが、これ迄の知見の多くは定性的な汚染実態に留まり、定量的知見は十分とは言い難い。危害性判断に当たっては、従って国内外の情報収集・整理および実態を捉えた定量データの集積が必要となる。

更に食品の製造加工過程では様々な指標菌を用いた衛生管理がなされるが、申請者等の予備調査では動物性食品とは異なり、植物性食品は生育過程を通じて環境由来の多様な細菌叢を形成し、多くが指標菌として検出される状況であることが明らかになりつつある。従って、上記食品に対する適切な指標菌の在り方を議論する為の基礎知見を得ることが、衛生管理を通じた安全確保に必須と考えられる。

本研究において、本年度は平成 24 年 8 月に北海道において発生した腸管出血性大腸菌 O157 による集団食中毒を受けて、その後、衛生規範の改正等が行われている社会的影響の大きさを鑑み、浅漬け食品を対象として、病原微生物汚染実態に係る細菌学的調査を行うと共に、衛生指標菌の定量検出を行った。また、16S rRNA をターゲットとする pyrosequencing 解析を通じ、これらの検体を構成する細菌叢に関する知見を収集した。更に、白菜の浅漬けを実験的に製造・保存し、添加回収試験を通じて、O157 の食品内挙動と細菌叢変動に関する知見を得ることとした。更に、衛生規範改正を通じた市販製品の衛生実態については不明であることから、衛生規範前後に流通した計 8 製品・96 検体の市販浅漬け製品を対象に、主要指標菌の定量及び構成菌叢解析を行い、衛生状況に関する比較検討を行ったので、報告する。

## B. 材料と方法

### 1. 食品検体の収集と構成

平成 25 年 6 月～10 月の間に東京都および神奈川県内で市販される浅漬け製品、計 66 検体を購入し、以下の試験に供した。当該検体は購入後、速やかにアイスボックスにて試験実施機関に搬入・前処理を行った。購入検体の原材料別構成は以下のとおりである：白菜浅漬け 30 (5 x 6) 検体；茄子浅漬け 18 (3 x 6) 検体；きゅうり浅漬け 6 (1 x 6) 検体；野沢菜浅漬け 6 (1 x 6) 検体；大根浅漬け 6 (1 x 6) 検体。

### 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 3 x 3cm 角に細断した後、滅菌ストマック袋 (関東化学) に入れ、緩衝ペプトン水 (Oxoid) 225 ml 加えて、1 分間ストマッキング処理を行った。同懸濁液 100  $\mu$  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 (Interscience) を用いて塗布し、一般細菌数、大腸菌群数、 $\beta$ -グルクロニダーゼ産生大腸菌の定量を製造メーカーの指示書に従って行った。

### 3. 各種病原細菌の検出

上述の緩衝ペプトン水懸濁液を 37  $^{\circ}$ C で 20 時間培養した後、腸管出血性大腸菌 (EHEC) の検出にあたっては、同培養液より全 DNA を抽出し、stx 遺伝子をターゲットとした PCR 反応によるスクリーニングを行った。同反応で陽性が見られた場合には、免疫磁気ビーズを用いた分離培養を行うよう準備を行った。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については、ISO 法に準拠して実施した。

### 4. 菌叢解析

上記 2. において調整した緩衝ペプトン水懸濁液 10ml より、PowerFood DNA Extraction kit (MO Bio) を用いて、全 DNA を抽出した。これを鋳型として、16S rRNA 792-1152 領域を PCR 増幅した。増幅産物を定量した後、Ion OneTouch Duo システムを用いてエマルジョン PCR 及び精製をおこなった。その後、サンプルを 318 v2. Chip 上へマニュアルロードし、Ion Torrent PGM 装置で配列解読を行った。

### 5. データ解析

取得配列データは、Ion Torrent サーバー上で、シーケンスタグ別に識別した後、fastq フォーマットで出力した。配列ファイルは CLC Genomic Workbench v.6.5 を用いて不要配列を除去した。Blast 検索後、Metagenome@KIN を用いて、階層解析・主成分分析等を実施した。

### 6. 白菜浅漬けの実験的製造とこれに伴う O157 添加回収試験、指標菌・構成細菌叢変動解析

市販白菜より 25g を採材し、約 3 x 3 cm に細分したものを滅菌ストマッカー袋中に入れ、食塩 (最終濃度 2%) あるいは市販浅漬けの素 (指示書に従って調整) を加えて、4  $^{\circ}$ C にて保存した。保存開始と共に、腸管出血性大腸菌 O157 EDL933-KM 株を  $1.4 \times 10^2$  CFU/g となるよう、同検体に接種または非接種し、0、3、6、12 日間の保存期間を経て、各検体 (N=3) に 225ml の緩衝ペプトン水を加え、ストマッカー処理を行った後、以下の試験に供した。

指標菌としては、一般細菌数および大腸菌群数を項目 2. に準じて求めた。

O157 の挙動測定には、カナマイシン (30 $\mu$ g/ml) を含むソルビットマッコンキー寒天培地 (栄研化学) を用い、発育集落数から食品中の生存菌数を求めた。

構成細菌叢の変動解析には、項目 4-5. に記載された方法を用いた。

### 7. 浅漬け検体の比較解析

計 4 製造施設において製造され、東京都内で市販される、8 製品を対象として、改正前 (2013 年 2 月) 及び改正後 (2015 年 3 月) に、各製品 6 検体入手した (計 96 検体)。なお、各製品の主原料となる野菜は、白菜・茄子・胡瓜・大根・野沢菜である。各検体に係る指標菌定量検出及び菌叢解析は上述と同様である。

## C. 研究結果

### 1. 国内浅漬け製品における主要病原細菌の汚染実態と衛生指標菌の定量検出結果

平成 25 年 6 月～同年 10 月の間に、東京都および神奈川県内で市販されていた野菜浅漬け製品 (白菜・茄子・きゅうり・大根・野沢菜) 計 66 製品について、主要病原細菌 (EHEC、サルモネラ属菌、リステリア・モノサイトゲネス) の検出を行ったが、いずれも陰性であった。衛生指標菌の定量結果としては、一般細菌数が平均値として、 $2.27E+06 \pm 5.67E+06$  CFU/g、大腸菌群数の平均値が  $6.32E+04 \pm 2.89E+05$  CFU/g

gであり、β-グルクロニダーゼ産生性大腸菌については何れも陰性であった(表1)。これらの成績を原材料別に観察したところ、白菜浅漬けでは、同時期に試験に供した他の原材料浅漬け製品に比べ、有意に高い菌数を認めた(図1)。

また、白菜検体の一部には、異なる時期の同一製品が含まれており、これらの衛生指標菌数の季節性挙動について検討することとした。結果として、6月購入検体の一般細菌数・大腸菌群数が $1.1E+04CFU/g$ 及び $9.5E+03CFU/g$ であったのに比べ、8月購入検体では $3.5E+06CFU/g$ および $5.3E+05CFU/g$ と上昇傾向を示した(図2)。10月購入検体では、これに比べて減少傾向を示した( $7.4E+05CFU/g$ 及び $1.1E+04CFU/g$ ) (図2)。

以上より、本研究における供試浅漬け検体では、主要病原細菌は検出されなかったが、指標菌の分布には原材料あるいは季節により差異を示すことが明らかとなった。

## 2. メタゲノム解析による構成細菌叢解析

上記の調査結果を受けて、原材料別、あるいは季節別の指標菌の検出数値変動と、構成細菌叢変動の関連性について検証するため、メタゲノム解析を実施することとした。

### 原材料別の構成細菌叢変動

計66検体の構成細菌叢ならびに検体間の系統学的関連性について検討するため、メタゲノム解析を実施した。なお、本検討にあたっては、各検体より約80,000-100,000リードを解析に供した。Phylum階層での系統樹を作成したところ、3つのクラスター(A, B, C)に大別された(図3)。原材料等の検体情報を加味したところ、野沢菜および白菜(10月)検体はクラスターAに、茄子、きゅうり、大根検体はクラスターBに、白菜(6月、8月)および野沢菜検体はクラスターCに分類されることが明らかとなった。種階層での主成分分析によっても、これら供試検体は、3クラスターに大別化される傾向が認められた(図4)。

以上より、本研究で用いた浅漬け製品は、原材料別に構成細菌叢の共通性を示すことが明らかとなった。

### 季節別の構成細菌叢変動

異なる時期に購入した白菜の浅漬け製品を対象として、構成細菌叢の比較を行った。月別にそれぞれ2検体を無作為に抽出、比較した棒グラフを図5に示す。当該製品では気温上昇に伴い、*Leuconostoc*科が優勢となる一方、*Lactobacillus*科、*Pseudomonas*科、腸内細菌科菌群の構成比は顕著に低減を認めた。

以上より比較対象として用いた白菜浅漬け製品では気温上昇を認める夏季には*Leuconostoc*科細菌が優勢となることが示された。

## 3. 白菜浅漬け中における0157挙動と構成細菌叢変動

白菜浅漬けを食塩或いは市販浅漬けの素を用いて実験的に製造し、0157および指標菌の食品内変動を検討した(図6)。漬け込み液の種別を問わず、0157は接種(製造)後、12日目においても、接種時の菌数から顕著な低減を示さず、長期的な生残を示すことが明らかとなった(図

7)。また、指標菌については、0157添加により、一般細菌数が若干の低減を示したが、非添加群では、穏やかな増加傾向を示した(図7)。非接種群における大腸菌群の挙動については、市販浅漬けの素で製造された検体では保存6日目まで検出されなかったが、12日目で $10^1$ オーダーが検出された。一方、食塩で製造された検体では、保存3日目で $10^2$ オーダーが検出された。同検体の製造・保存における細菌叢変動をメタゲノム解析により検討したところ、供試白菜原料は約80%が*Pseudomonas*属菌により占められていたが、市販浅漬けの素を使用して製造された検体では、0157接種により*Pseudomonas*属の経時的減少と*Flavobacterium*属・*Sphingomonas*属の経時的増加が認められた(図8-9)。一方、食塩を用いて製造された検体では、0157接種の有無に関わらず、*Pseudomonas*属の更なる優勢化が保存を経るにつれて顕著となった(図10-11)。

以上より、白菜の浅漬け中において0157は長期的に生残しうることを、製造時の漬込み液の性状や保存時間により、同検体を構成する細菌叢が大きく変動することが明らかとなった。

## 4. 衛生規範改正前後に市販された浅漬け製品中の衛生指標菌数の比較

衛生規範改正前後に、4施設にて製造された、計8種の浅漬け製品を対象として、製品・サンプリング時期の別にそれぞれ6検体(計96検体)における衛生指標菌数を直接塗抹法により求め、改正前後での各製品の衛生状況に関する知見の収集をはかった。サンプリング時期別の比較成績概要については、表1に記す。

生菌数は、検体全体を対象とした改正前後での比較により有意差は認められず、改正前の平均生菌数は $2.52 \times 10^6 CFU/g$ 、改正後の同数値は $2.05 \times 10^6 CFU/g$ であった。製品別では、計5製品では改正前後で有意差を以て数値の変動が認められた( $p < 0.05$ )が、残り3製品の同数値は改正前後で有意差を認めなかった。

大腸菌群については、製品全体での平均値が改正前で $1.77 \times 10^3 CFU/g$ 、改正後では $2.57 \times 10^4 CFU/g$ と若干上昇傾向にあった。しかしながら、製品別での比較を通じ、同数値の多くは製品No.5に因るものであることが明らかとなり、他の6製品(製品No.1, 2, 3, 4, 7, 8)について、製品別に改正前後間での同菌数を比較検討したところ、有意差をもって減少傾向を示した。なお、大腸菌については本研究で供試した全ての検体で陰性となった。

乳酸菌数は、改正前の平均値が $3.17 \times 10^5 CFU/g$ であったのに対し、改正後には $9.93 \times 10^5 CFU/g$ と増加傾向を示した。製品別では、計4製品(製品No.5, 6, 7, 8)において有意な増加を認めた( $p < 0.05$ )。一方、製品No.2およびNo.3の乳酸菌数は、改正後に減少を示した。

以上より、衛生規範の改正を通じて、供試対象とした市販浅漬け製品における各種衛生指標菌は顕著に変動したことが明らかとなった。

## 5. 衛生規範改正を通じた市販浅漬け検体の構成菌叢変動

### (i) 優勢菌叢の変動

衛生規範改正前における優勢構成菌叢は、*Roseateles* spp. (平均構成比 40.56%)、*Leuconostoc* spp. (同 19.72%)、*Rhizobium* spp. (6.71%)、*Sphingomonas* spp. (6.59%)、*Methylobacterium* spp. (3.28%)等であった。一方、同規範改正後における各製品の優勢菌叢については、*Leuconostoc* spp. (32.52%)、*Lactobacillus* spp. (23.60%)、*Buttiauxella* spp. (11.20%)、*Pseudomonas* spp. (5.87%)、*Sphingomonas* spp. (5.47%)等となり、何れの製品においても、最も優勢となる菌叢については改正前後で異なっていた(図 15)。

### (ii) 大腸菌群に分類される菌叢の検証

大腸菌群に属すると推察される菌属として、供試検体より検出されたものは、*E. coli*の他、*Klebsiella*, *Buttiauxella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Pantoea* spp.等があった。大腸菌群は、更に糞便由来または非糞便(環境)由来とする細分類の他、病原性を指標とした識別も学術的には行われている。製品別に見た、改正前後での構成菌叢比較を通じ、製品 No. 5 では、*Buttiauxella* spp.の構成比が、改正前の  $2.02 \times 10^{-2}$  %から改正後には 83.19%にまで急激に増加している実態が把握された(図 15)。

### (iii) 乳酸菌構成比の変動

構成菌叢解析を通じ、供試検体において乳酸菌として検出された菌属としては、*Aerococcus*, *Carnobacter*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weissella* spp.等が含まれると想定された。漬物製品一般において高頻度に検出される乳酸菌としては、*Lactobacillus* spp.や *Leuconostoc* spp.が知られている。浅漬け製品を構成する乳酸菌に該当する菌叢の構成比は、全検体では改正前で 25.40%であったが、改正後には 57.00%と増加傾向にあった。製品別での比較により、計 4 製品(製品 No. 3, 4, 6, 7)では改正後に有意な乳酸菌に該当する菌属構成比の増加が確認された(表 2)。一方、製品 No. 2 及び No. 5 では改正後の乳酸菌構成比率は改正前に比べ、減少傾向にあった。

### (iv) 主要食中毒起因菌の構成比変動

*EHEC*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* は生鮮野菜・果実に起因する細菌性食中毒の主たる原因菌として知られる。改正前後でのこれら 3 菌属(種)の構成比比較を行ったところ、*Salmonella* spp.については、衛生規範改正前の製品 No. 5 より検出され、その構成比は、 $2.23 \times 10^{-3}$  %であったが、改正後検体は何れも陰性を示した。また、*Listeria* spp.については、改正前の 3 製品(No. 2, 5, 7)より検出され、その構成比はそれぞれ  $1.42 \times 10^{-3}$ %,  $1.05 \times 10^{-2}$ %,  $2.15 \times 10^{-3}$ %であり、改正後検体での同菌由来遺伝子は製品 No. 5 の 1 検体のみから認められた(データ未載)。

## D. 考察

食品の分類については、平成 22-24 年度 厚生労働科学研究「冷凍食品の微生物規格基準に関する研究」において、検討してきたところであるが、この中でも、“野菜・果実類”に関する微生物汚染実態については依然として知見に欠ける部分が多い。また、国内では農林水産省・厚生労働省による汚染実態調査も進められてきたが、試験法として定性法が用いられている現状を踏まえ、本研究では、「野菜浅漬け食品」を対象として、衛生指標菌ならびに主要病原細菌の定量検出を試みた。

主要病原細菌として試験対象に選定した、腸管出血性大腸菌、サルモネラ属菌、リステリア・モノサイトゲネスは、何れも野菜・果実類への汚染リスクが相対的に高い病原体として国際的に認識されている。わが国においては、特に平成 24 年 8 月に北海道で発生した、白菜の浅漬けによる腸管出血性大腸菌 0157 集団食中毒事例を契機として、漬物の衛生管理に対する社会的関心が高まりを見せると共に、原材料の受け入れから製品の販売までの各工程における漬物の取り扱い等の指針を示し、漬物に関する衛生の確保及び向上を図ることを目的として、衛生規範の改正が行われたところである(平成 25 年 12 月 13 日付け食安発 1213 号第 2 号)。当該規範では、次亜塩素酸での殺菌処理を一例として提唱し、その具体的条件を定めている。本研究に供試した浅漬け食品検体はいずれも主要病原細菌が陰性であった。野菜全般については、大腸菌の定性陽性率が概ね 1%未満であることに加え、本試験で用いた検体製品では次亜塩素酸による殺菌工程の導入されていること、あるいは製造事業者の意識向上・教育の充実化が図られた結果によるものかもしれない。

次亜塩素酸については、一方で有機物存在下では急速に殺菌能力を失うという特性が以前より明らかとなっており、塩素臭が残るため、風味の劣化が懸念されること等も生産者・消費者側からの疑問点として挙げられている。浅漬けを含めた、野菜類の殺菌方法については、代替可能な物質の探索・開発が十分に達成されていないが主因と目されるが、近年では、酸性次亜塩素酸・ペルオキソ酢酸・電解水、マレイン酸、あるいはそれらの混合等、多様な溶媒を用いた手法が研究レベルで検討されており、今後も更なる開発検証の進展が望まれる。しかしながら、次亜塩素酸等の化学物質による殺菌は原材料の表面に付着する病原微生物に対して広域性効果を示す一方、原材料の内部やカット面に侵入した微生物に対する有効性は低いとされる。これに関連して、Houらはエタノール殺菌および次亜塩素酸による殺菌後に、レタス内部組織中には多様な細菌が生残することを報告しており、0157 やサルモネラが内部へ侵入することが細菌学的あるいは分子生物学的に証明されている実情を踏まえ、こうした侵入性微生物に対する実態解明と制御対策等についても今後の取り組むべき課題として想定されよう。更に、今回の検討により明らかになった構成細菌叢の分布・動態と、細菌の局在との関連性についても、

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難く、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ルム形成等を介して、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。-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

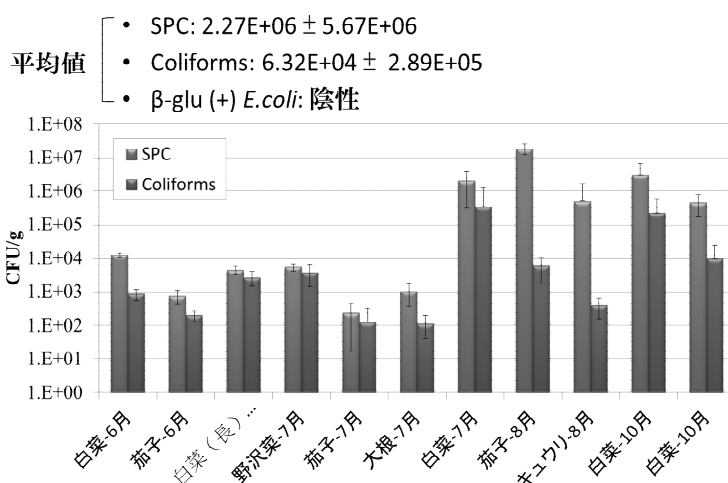
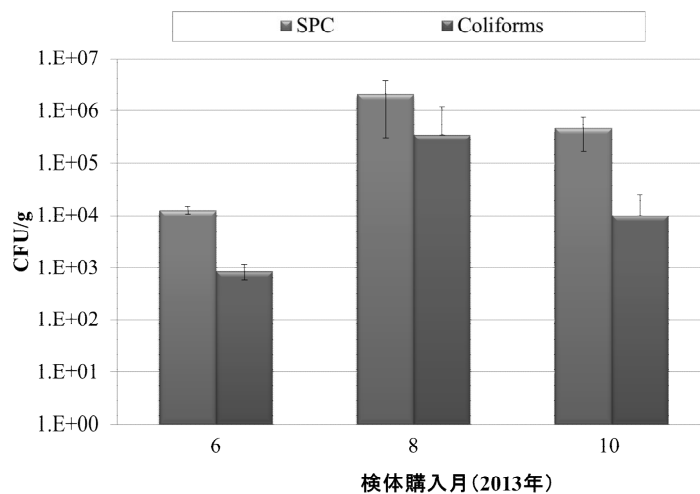


図2. 季節変化に伴う白菜浅漬由来指標菌定量数の変動



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

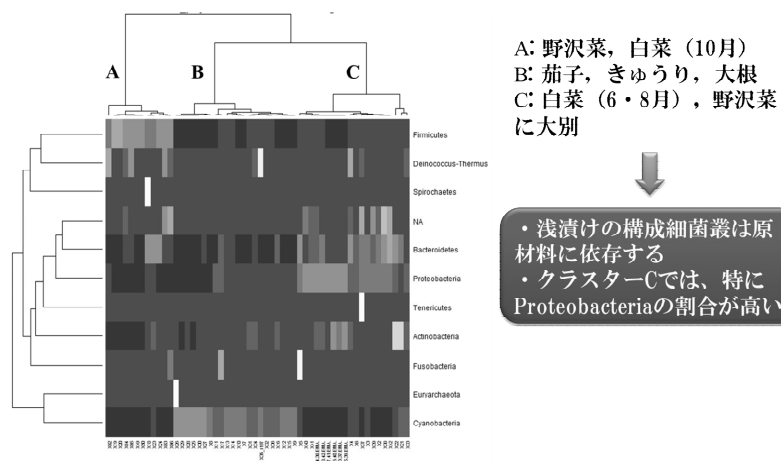


図4.浅漬け検体間の構成細菌叢データに係る主成分分析

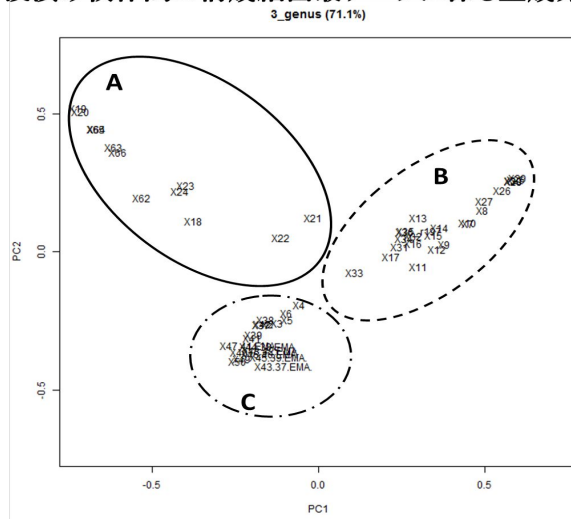


図5.白菜浅漬け検体の季節別構成細菌叢の比較

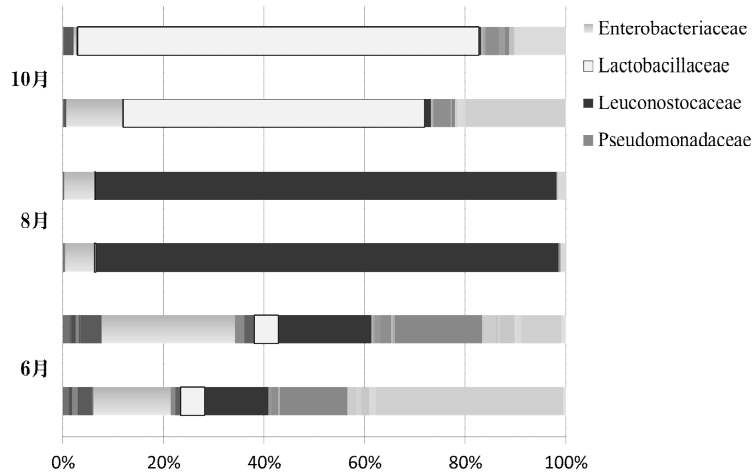


図6.白菜の浅漬けにおけるEHEC O157の添加回収試験

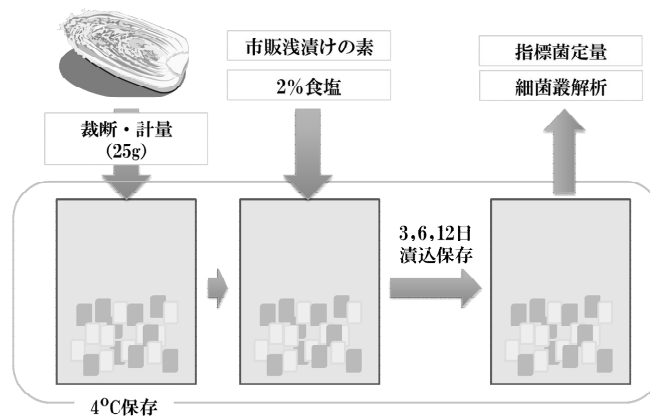


図7. 白菜浅漬けの製造・保存を通じた、指標菌の挙動

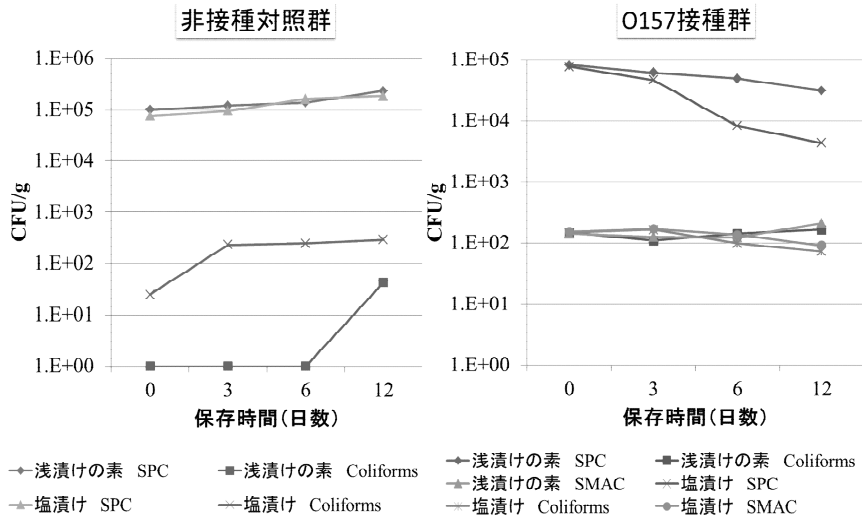
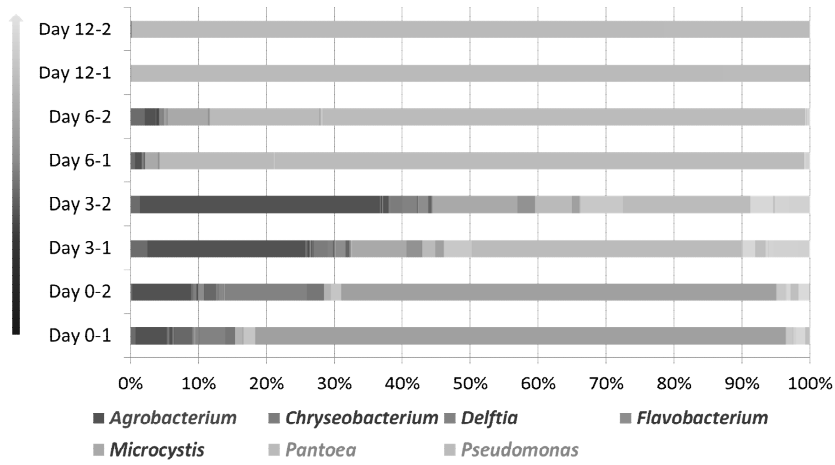


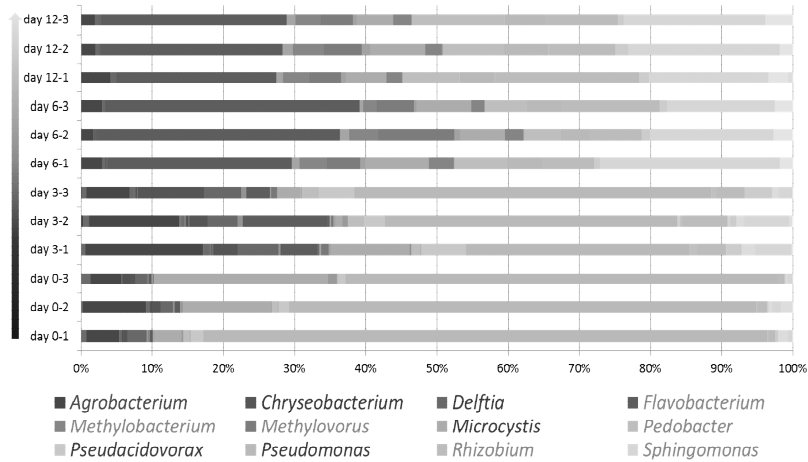
図8.白菜浅漬(市販漬込液)における細菌叢変動～O157非接種群



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

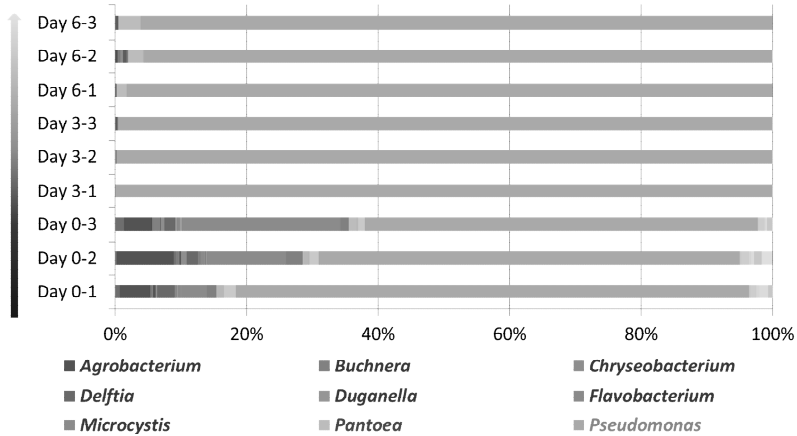


図9.白菜浅漬(市販漬込液)における細菌叢変動～O157接種群



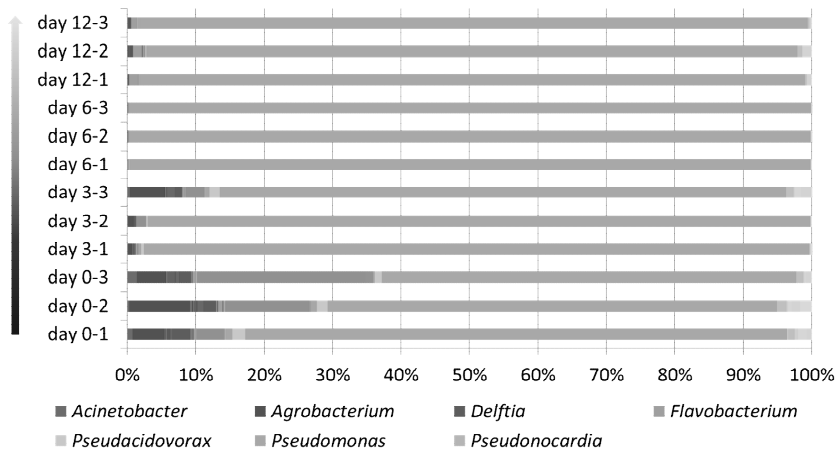
0157非接種時とは異なる変動：*Pseudomonas*属の減少、*Flavobacterium*属の増加等

図10.白菜浅漬(2%食塩)における細菌叢変動～O157非接種群



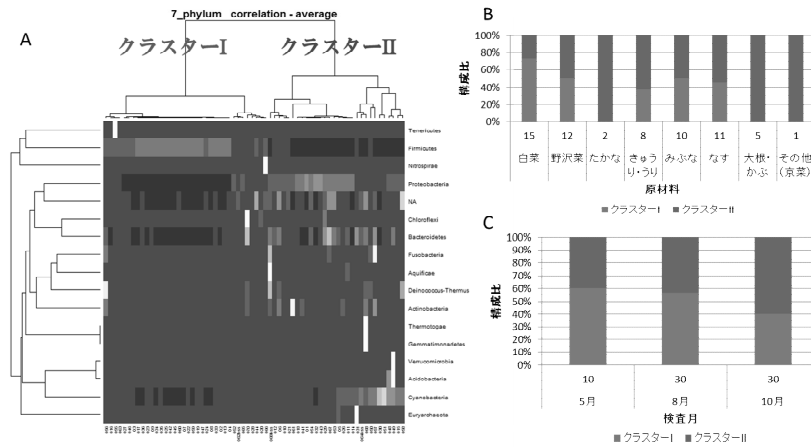
*Pseudomonas*属の顕著な優勢化 + *Pantoea*属の微増

図11.白菜浅漬(2%食塩)における細菌叢変動～O157接種群



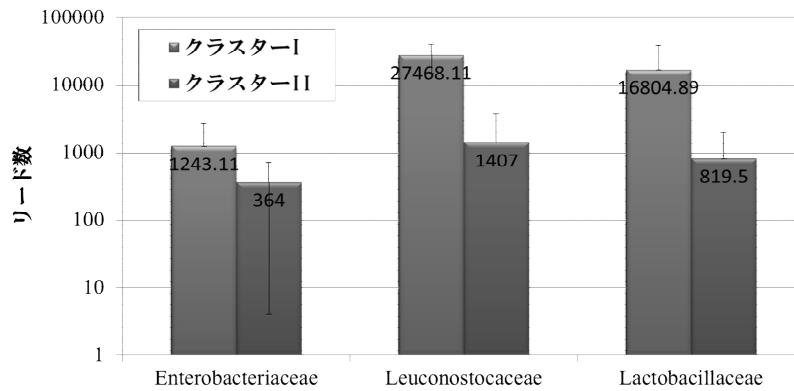
*Pseudomonas*属の顕著な優勢化 + *Citrobacter*, *Flavobacterium*属の微増  
(O157非接種時とほぼ同様の変動)

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



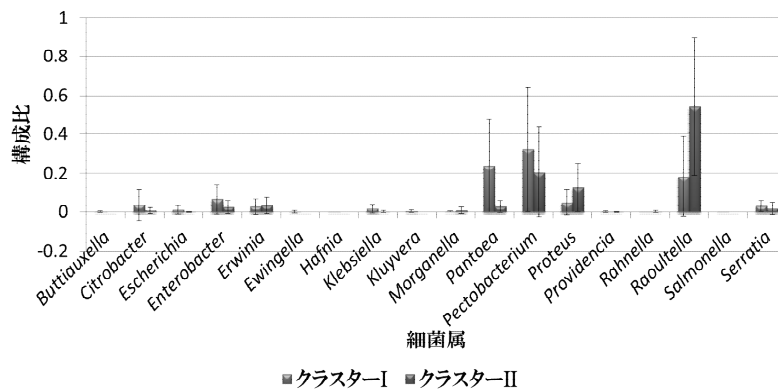
白菜検体は他原材料検体に比べ、クラスタ-Iに分岐される割合が高い

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言えない

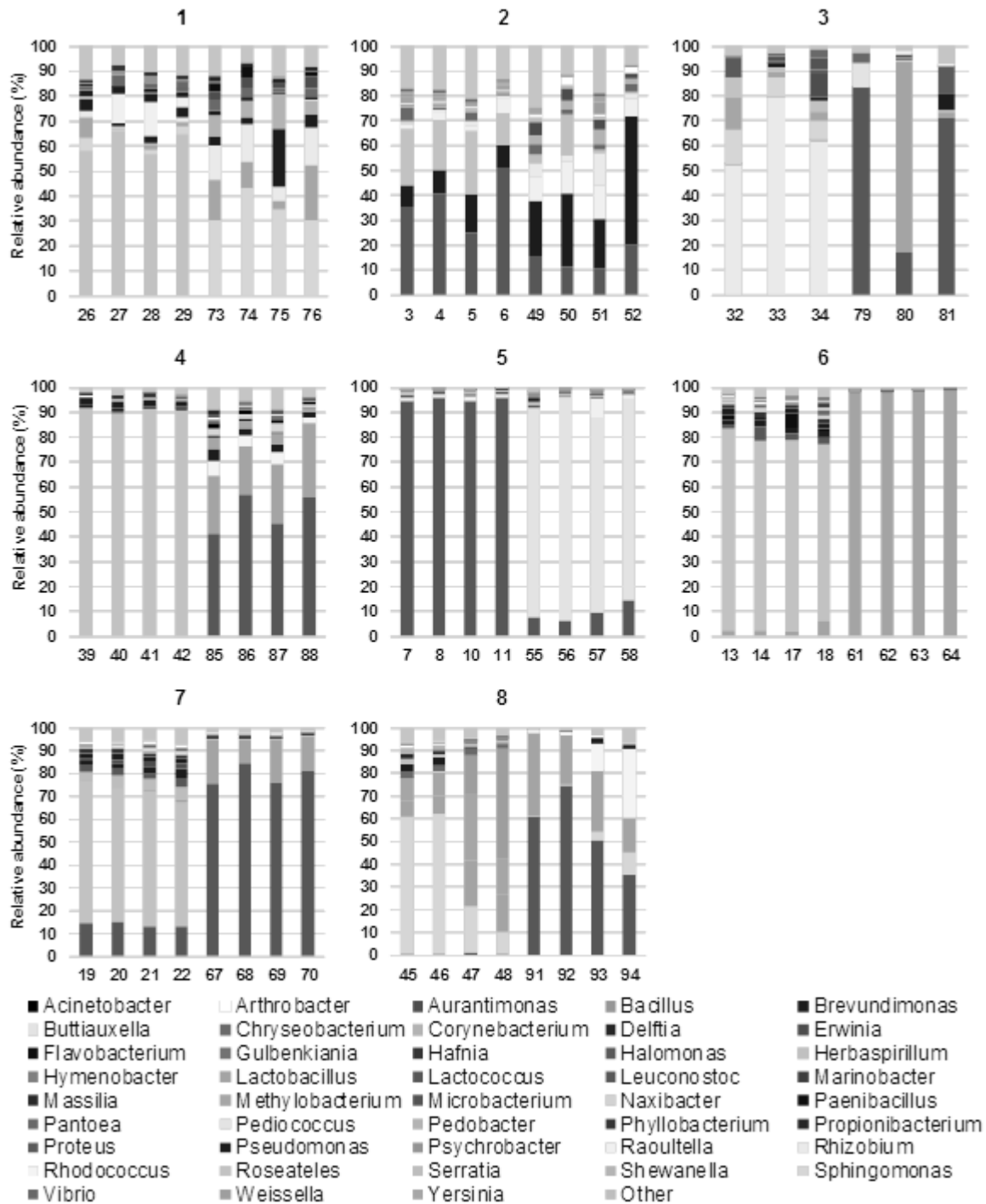


図 15 . 衛生規範改正前後間での市販浅漬け製品構成菌叢の比較 .

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.

生菌数							
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	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	<b>0.04217</b>
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	<b>0.00005</b>
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	<b>0.04290</b>
7	大根	C	7.81E+03	± 7.70E+03	3.75E+04	± 1.92E+04	<b>0.01100</b>
8	野沢菜	D	1.10E+06	± 1.28E+06	2.90E+06	± 1.74E+06	<b>0.03589</b>
平均菌数(CFU/g)↵			2.52E+06	± 6.48E+06	2.05E+06	± 4.57E+06	0.34153

↵ 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	<b>0.00162</b>
2	白菜	A	8.58E+02	± 2.87E+02	2.00E+02	± 3.03E+02	<b>0.00159</b>
3	胡瓜	A	4.03E+02	± 2.50E+02	0.00E+00	± 0.00E+00	<b>0.00541</b>
4	茄子	A	2.00E+02	± 7.07E+01	0.00E+00	± 0.00E+00	<b>0.00048</b>
5	茄子	A	5.97E+03	± 4.27E+03	2.06E+05	± 7.26E+04	<b>0.00054</b>
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	<b>0.01099</b>
8	野沢菜	D	3.78E+03	± 2.38E+03	5.00E+01	± 5.48E+01	<b>0.00603</b>
平均菌数(CFU/g)↵			1.77E+03	± 2.64E+03	2.57E+04	± 7.27E+04	<b>0.01349</b>

↵ 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	<b>0.01660</b>
3	胡瓜	A	5.55E+03	± 2.24E+03	2.50E+02	± 1.05E+02	<b>0.00107</b>
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	<b>0.00038</b>
6	茄子	B	8.22E+03	± 1.03E+04	1.65E+05	± 1.43E+05	<b>0.02173</b>
7	大根	C	1.06E+05	± 6.88E+04	7.44E+05	± 2.05E+05	<b>0.00016</b>
8	野沢菜	D	9.52E+05	± 6.88E+05	1.86E+06	± 7.15E+05	<b>0.02398</b>
平均菌数(CFU/g)↵			3.17E+05	± 4.22E+05	9.93E+05	± 1.52E+06	<b>0.00227</b>

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	<b>0.00885</b>
3	胡瓜	A	6.63E-01	± 3.72E-01	8.45E+01	± 9.17E+00	<b>0.00203</b>
4	茄子	A	5.13E-01	± 4.50E-01	7.52E+01	± 8.97E+00	<b>0.00021</b>
5	茄子	A	9.66E+01	± 9.29E-01	1.00E+01	± 3.39E+00	<b>0.00001</b>
6	茄子	B	6.28E+00	± 2.93E+00	9.89E+01	± 5.12E-01	<b>0.00000</b>
7	大根	C	1.92E+01	± 9.20E-01	9.67E+01	± 7.85E-01	<b>0.00000</b>
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	<b>0.00522</b>

\*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)。

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 0157 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 0157/026/0111、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 3 × 3cm 角に細断後、緩衝ペプトン水 225 ml 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 0157/026/0111 の検出は、「腸管出血性大腸菌 026、0111 及び 0157 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、おにっぱを除去後、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 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  $\beta$ -グルクロニダーゼ産生大腸菌は陰性であった。

##### 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)。

##### 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、化粧糠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糠が付着していたが、通常、喫食前に水道水で表面を洗浄して化粧糠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糠を洗い落とす後に、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。

##### 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。

##### 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争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られた (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

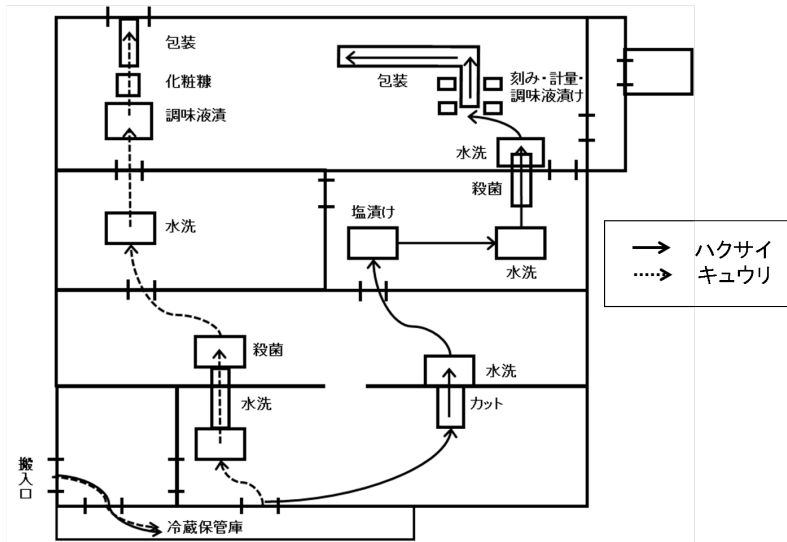


図2. ハクサイ浅漬けの製造工程概要と採取検体

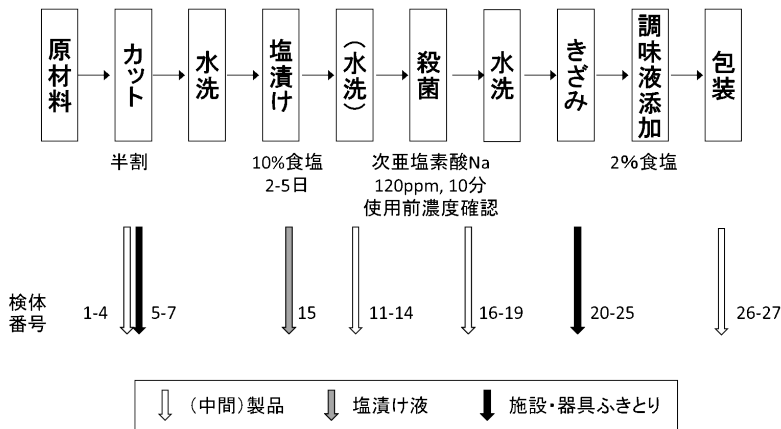
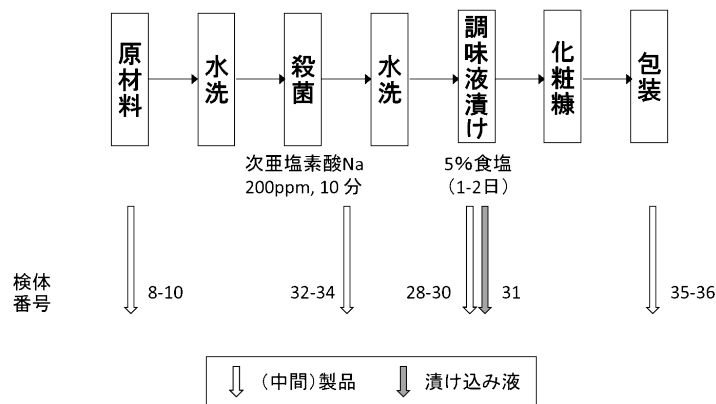


図3. キュウリ浅漬けに係る製造工程概要と採取検体



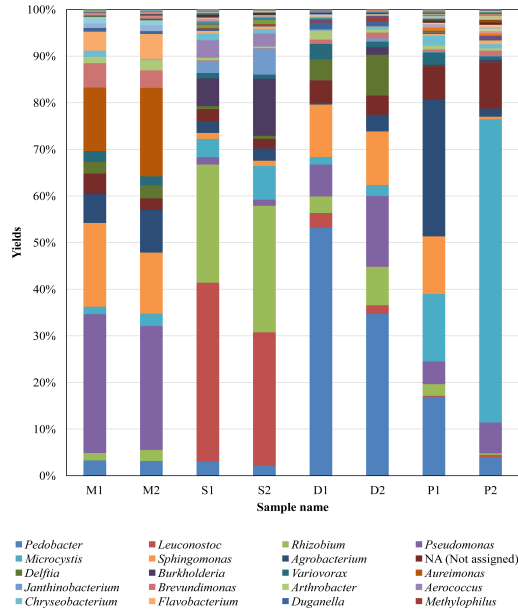


図4.白菜浅漬けの製造工程を通じた菌叢変動

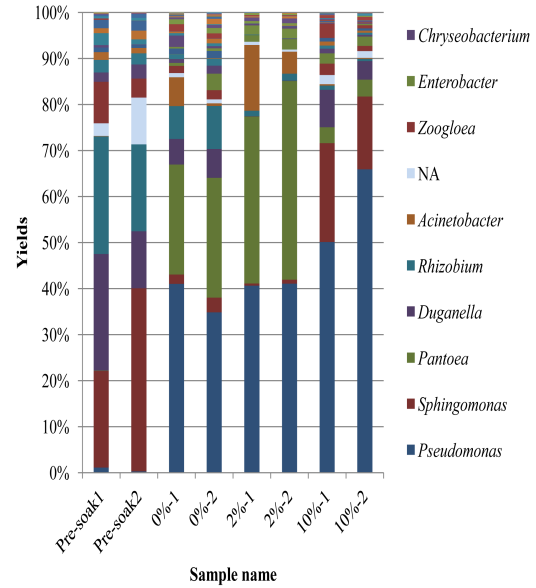


図6.異なる食塩濃度で漬込みを行った際の白菜由来菌叢の変動

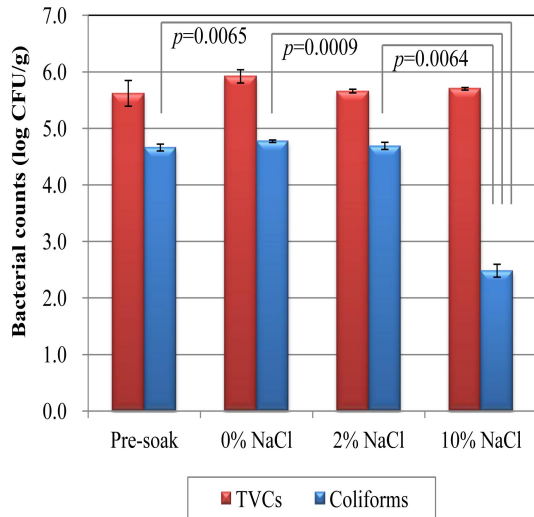


図5.異なる食塩濃度で漬け込みを行った際の白菜由来指標菌数の変動

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 <sup>2</sup> ) (右欄: 平均値)				
			SPC	Coliforms	β-Glu(+) <i>E.coli</i>		
1	原材料(カット後)	ロットA	9.67E+04		8.30E+03		0
2			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	カット作業台	ロットA	3.50E-01		1.00E-01		0
6			5.00E-02	1.50E-01	0.00E+00	3.33E-02	0
7			5.00E-02		0.00E+00		0
11	塩漬け後水洗	ロットB	6.30E+03		0.00E+00		0
12			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	塩漬け漬込液	ロットB	7.01E+04	7.01E+04	0.00E+00	0.00E+00	0
16	殺菌後	ロットB	1.24E+04		0.00E+00		0
17			3.00E+03	8.87E+03	0.00E+00	8.75E+01	0
18			1.28E+04		0.00E+00		0
19			7.32E+03		3.50E+02		0
20	きざみ(まな板1)	ロットB	2.50E+00	3.70E+00	0.00E+00	0.00E+00	0
21	きざみ(まな板2)		4.90E+00		0.00E+00		0
22	きざみ(包丁)		6.91E+00	6.91E+00	0.00E+00	0.00E+00	0
23	きざみ(作業台1)		9.95E+00	4.98E+00	0.00E+00	0.00E+00	0
24	きざみ(作業台2)		0.00E+00		0.00E+00		0
25	きざみ(はかり)		1.05E+00	1.05E+00	0.00E+00	0.00E+00	0
26	最終製品	ロットB	5.30E+03		0.00E+00		0
27			5.64E+03	5.47E+03	0.00E+00	0.00E+00	0

\* ふき取り検体 (CFU/cm<sup>2</sup>)・使用後塩漬け液 (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	原材料	ロットA	4.80E+05		0.00E+00		0
9			2.54E+05	2.94E+05	0.00E+00	2.43E+03	0
10			1.50E+05		7.30E+03		0
32	殺菌洗浄後	ロットA	2.55E+03		5.00E+01		0
33			3.02E+04	1.29E+04	0.00E+00	1.67E+01	0
34			6.05E+03		0.00E+00		0
28	調味液漬け	ロットB	2.00E+02		0.00E+00		0
29			0.00E+00	4.33E+03	0.00E+00	0.00E+00	0
30			1.28E+04		0.00E+00		0
31	調味液(残液)	ロットB	3.50E+02	3.50E+02	0.00E+00	0.00E+00	0
35	最終製品	ロットB	3.80E+03		5.00E+01		0
36			3.85E+03	3.83E+03	5.00E+01	5.00E+01	0

\* 使用後漬け込み液の成績 (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、麹漬け、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、麹漬け、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のを含む。)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

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、

酢漬けの生産量が上昇傾向にあった。

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。

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、群馬が続き、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け関係であった。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。

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いえる。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)。

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」各県別漬物の出荷金額
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)

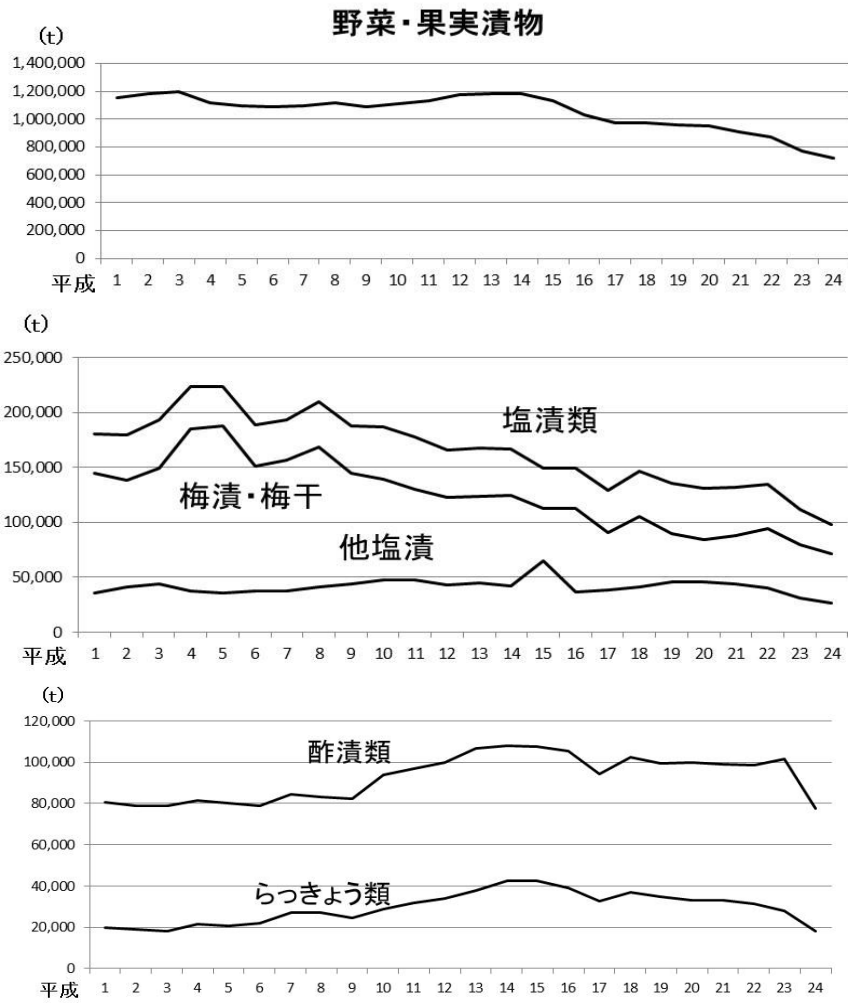


図2. 平成23, 24年度月別漬物生産量

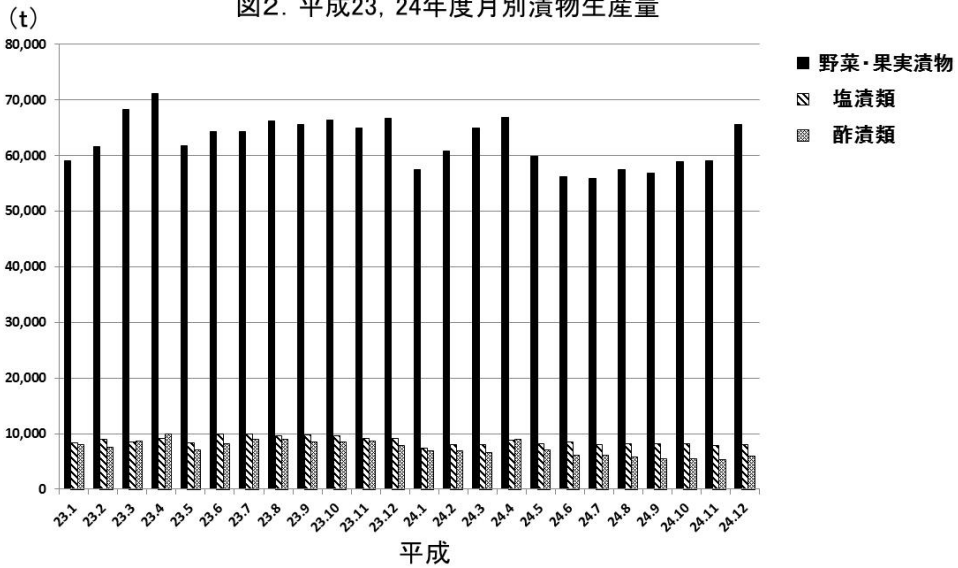




図3. 地方別野菜漬物(果実漬物を含む)の出荷金額

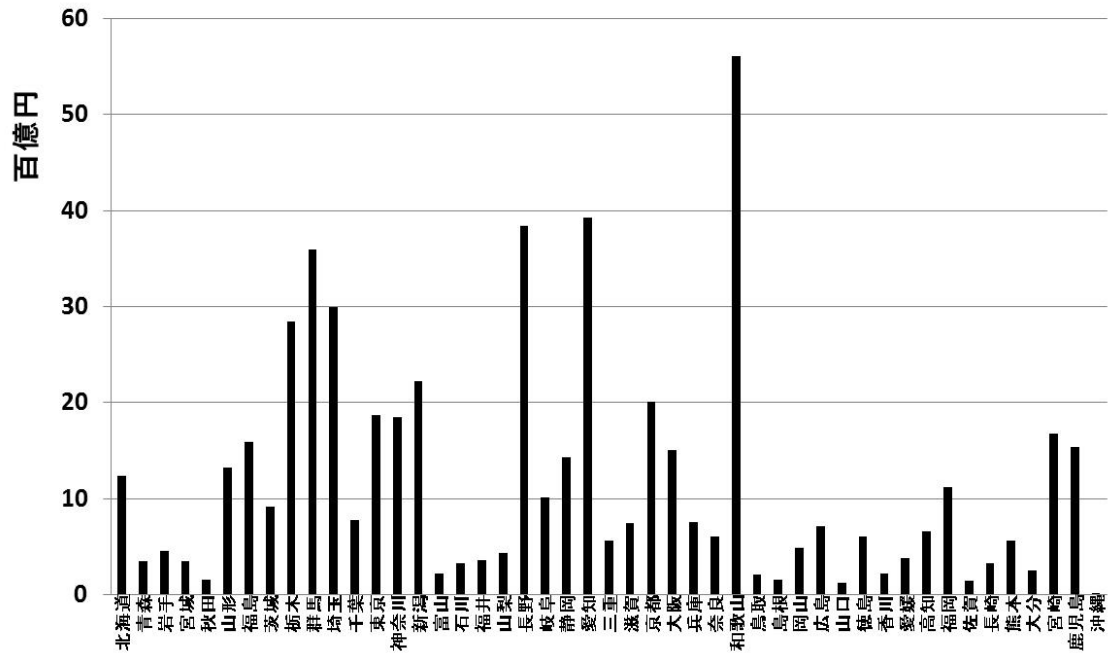
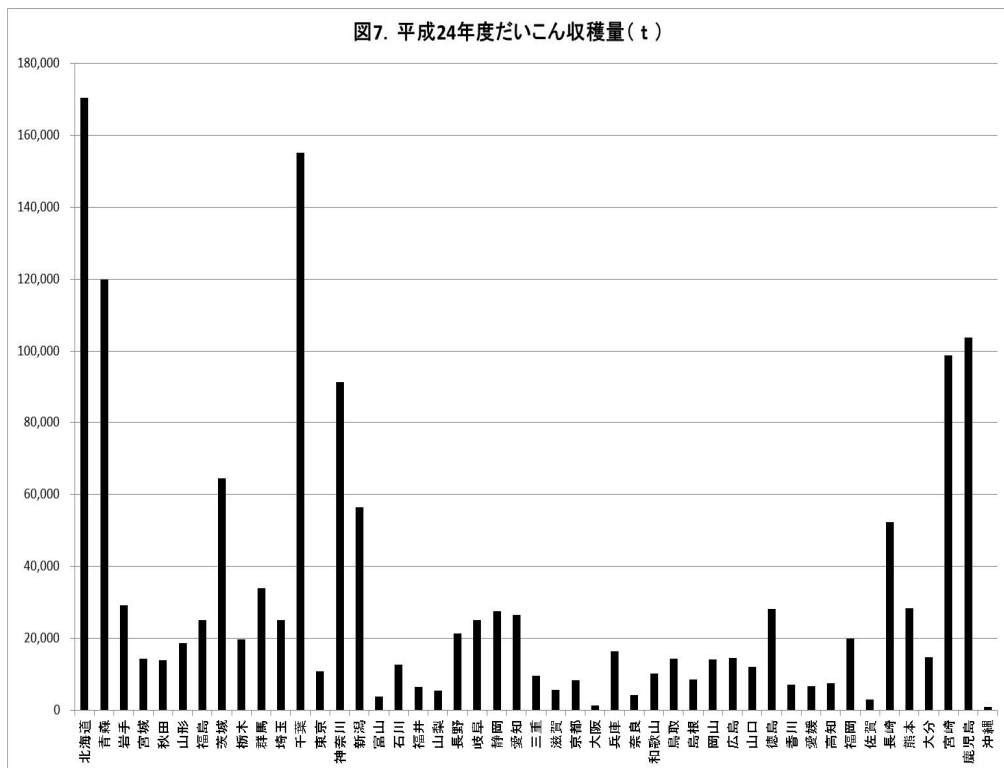
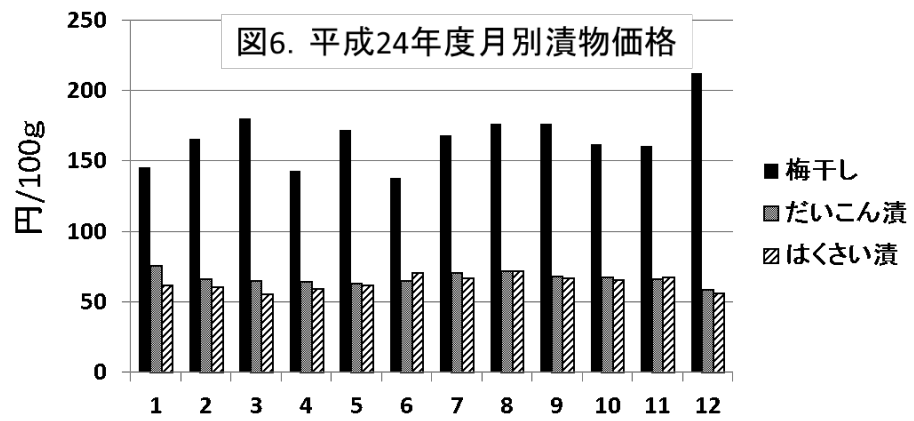
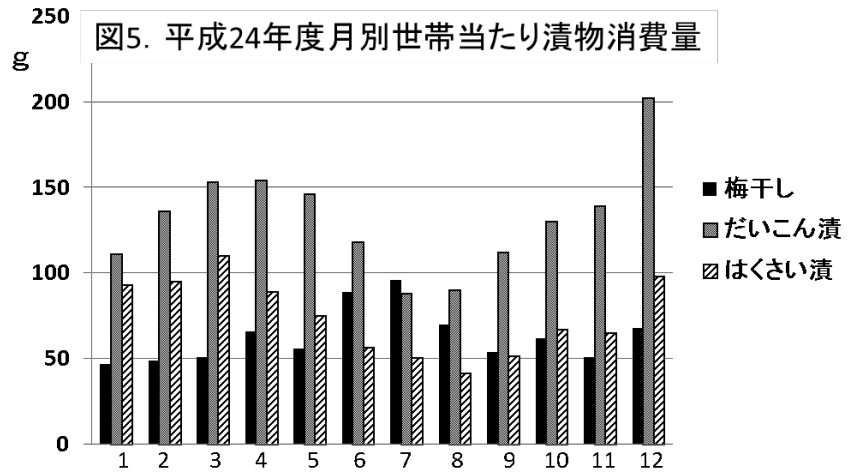
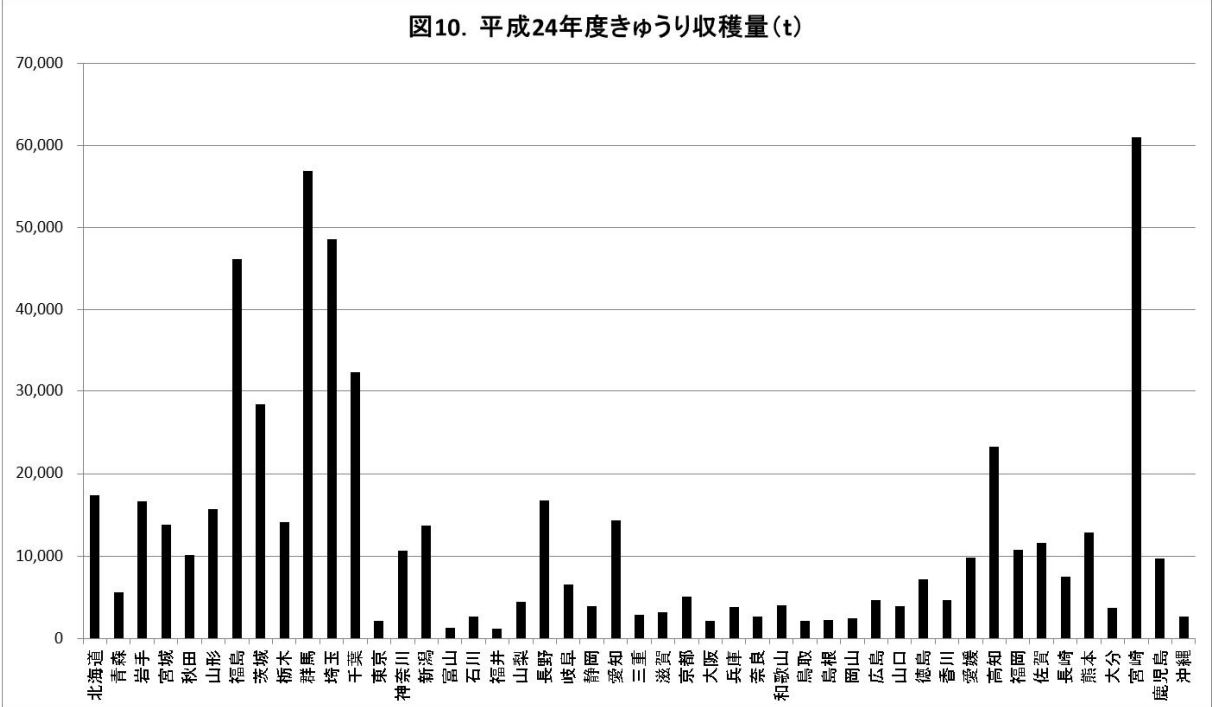
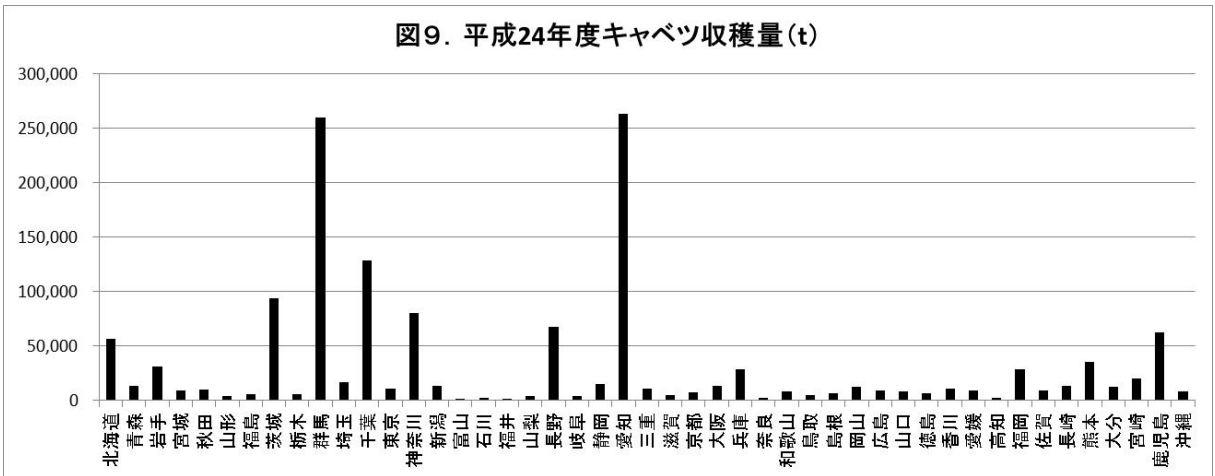
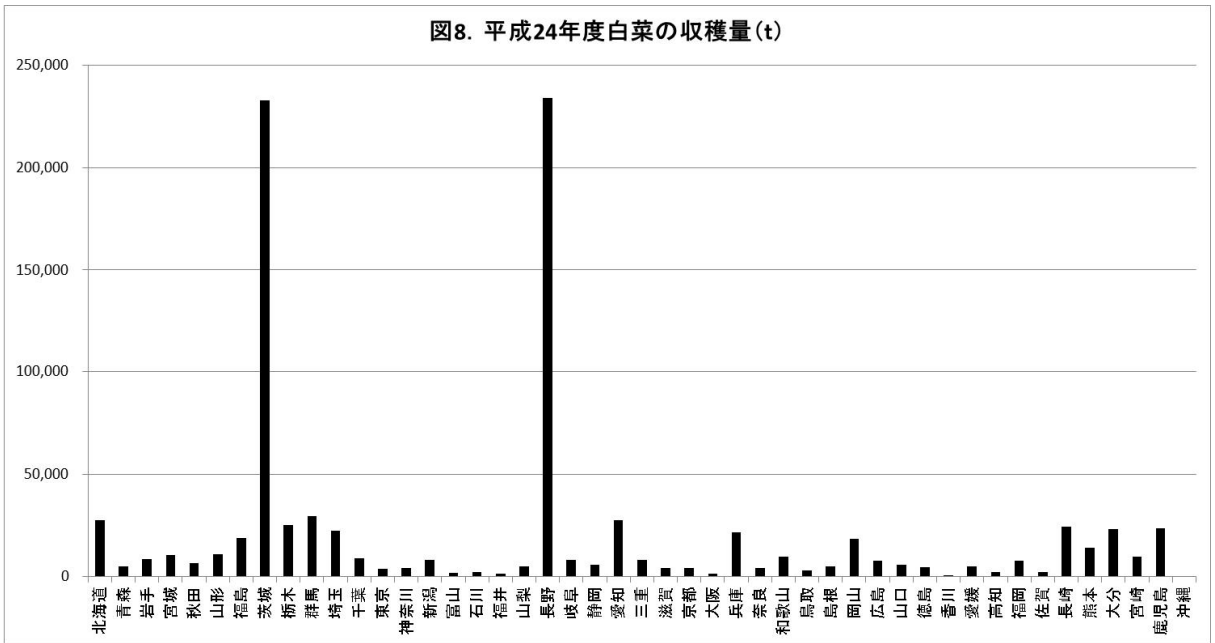


図4. 全国漬物関連業者数の比較







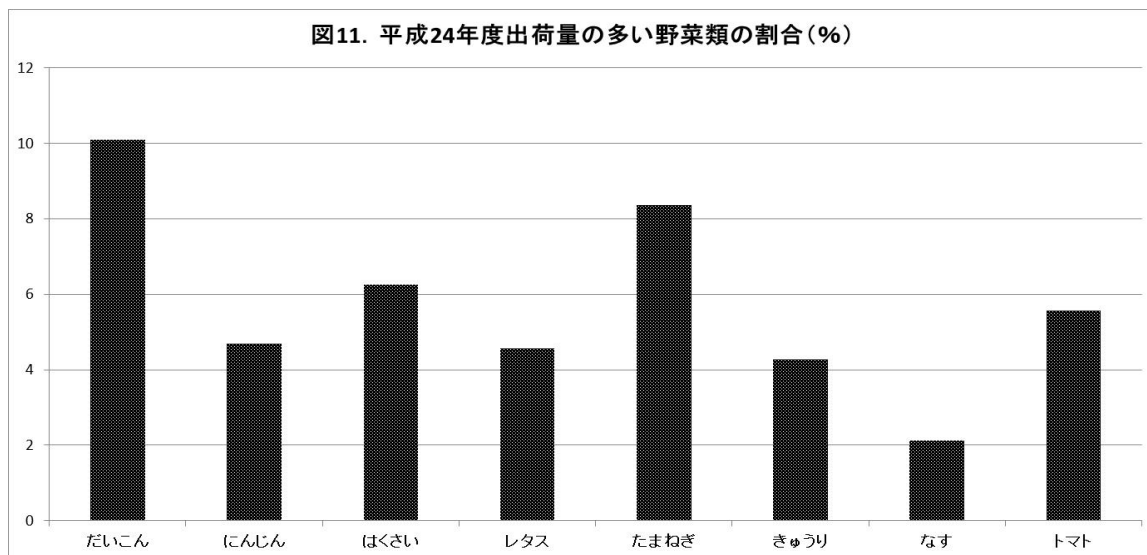


表1. 漬物出荷量上位の都府県(1~10位)

順位	都道府県名	件数
1	和歌山県	450
2	長野県	359
3	大阪府	290
4	京都府	279
5	東京都	266
6	静岡県	209
7	愛知県	209
8	福岡県	177
9	神奈川県	152
10	埼玉県	146

表2. 和歌山県内で出荷量の多い市町村

順位	市区町村名	件数
1	日高郡みなべ町	157
2	田辺市	156
3	和歌山市	65
4	西牟婁郡白浜町	20
5	西牟婁郡上富田町	17
6	有田郡有田川町	7
7	新宮市	6
8	御坊市	5
9	紀の川市	4
10	伊都郡高野町	2

表3. 長野県内で出荷量の高い市町村

順位	市区町村名	件数
1	安曇野市	78
2	松本市	49
3	飯田市	28
4	長野市	24

表 4. 地域ごとの代表的な漬物

県名	生産量または出荷額から見た場合	名産・特産・土産品等の知名度から見た場合
北海道	沢庵漬、浅漬、醤油漬	紅鮭はさみ漬:大根、白菜、キャベツ、人参、きゅうり、紅鮭を交互に積み重ね、甘口こうじで漬ける にしん漬:キャベツ、大根、人参等野菜をぜいたくな上質身欠きにしん、数の子とともに甘口こうじで漬け込む 松前漬:昆布とするめ細切りを醤油とみりんで漬ける
青森	沢庵漬	梅漬:しそ巻きの梅漬
岩手	浅漬、醤油漬	金婚漬:かりもり瓜に詰め物をした味噌漬または醤油漬
宮城	きゅうり醤油漬、浅漬	長なす漬:小指ほどの細長いなすの塩漬で、その紫色はみごとである
秋田		いぶりたくあん:囲炉裏の上に吊るして大根を干すための薪の煤のため黒くなったものを本漬にした燻製沢庵
山形	おみ漬、青菜漬	菊花漬:菊をはじめとして山菜を多種きざみ合わせ塩漬にしたもの 小なすのからし漬:小なすを洋がらして漬けたもの
福島	きゅうり醤油漬、浅漬	三五八漬:塩・麹・餅米を3:5:8の割合で床をつくり毎日の野菜を漬け込み、翌日漬け上げる
茨城	大根下漬、浅漬	納豆漬:刻野菜を納豆で漬ける
栃木	生姜酢漬、らっきょう漬、たまり漬、沢庵漬	寿司用がり:寿司用生姜 たまり漬:日光を中心にたまりしょうゆを使用したたまり漬は県の主力名産品 甘らっきょう漬:良質な歯ごたえと風味のよいらっきょうは県の特産品
群馬	梅漬類、沢庵漬、福神漬、楽京漬、浅漬	かりかり漬:歯切れのよい梅漬
埼玉	沢庵漬、べったら漬、奈良漬、なす漬、醤油漬	しゃくし菜漬:しゃくし菜の発酵漬
千葉	浅漬	鉄砲漬:うりの醤油漬 らっきょう甘酢漬:甘酢に漬けたらっきょう漬 小茄子のこうじ漬:小茄子を米糀の漬床で漬けたもの
東京	刻み醤油漬類、浅漬、沢庵漬	べったら漬:皮剥大根の米糀、塩、砂糖等による浅漬 東京沢庵:大根の糠漬で東京たくあんとして広く普及した 福神漬:大根、茄子、志そ、ごま、蓮根、なた豆等の刻混合醤油漬
神奈川	浅漬、梅干、生姜漬、醤油漬	梅干:小田原近在の良質の梅を梅干にしたもの 小梅漬:小梅をかた漬にしたもの 桜の花漬:桜の花の塩漬で熱湯を注ぎ、花が開いたところを飲む。 桜湯は優雅な飲み物

新潟	沢庵漬、味噌漬(各種)、浅漬類、醤油漬	山海漬:数の子と刻野菜を粕漬にしたもの 数の子漬:数の子と野菜を醤油で漬け込んだもの 味噌漬詰合せ:大根、茄子、きゅうり、生姜、野菜等を味噌で漬け込んだもの
富山	浅漬	かぶら寿し:ブリ、サバをうす切りし、かぶの間にはさんで麴で漬けたもの
石川	らっきょう酢漬	かぶら寿し:ブリ、サバをうす切りし、かぶの間にはさんで麴で漬けたもの
福井	浅漬	花らっきょう:小粒ならっきょうの酢漬
山梨	小梅漬	甲州小梅漬:甲州産小梅をかた漬にしたもの
長野	野沢菜、やまごぼう味噌漬、大根味噌漬、きゅうり味噌漬、わさび漬	野沢菜:野沢菜の塩漬又は醤油漬 やまごぼう味噌漬:やまごぼうを味噌に幾度も漬け換えてつくったもの わさび漬:わさびの根・茎を細断、塩漬したものを酒粕と混合したもの
岐阜	沢庵漬	赤かぶ漬:赤かぶを丸のまま塩漬にしたもの しな漬:赤かぶなど、いろいろな野菜を塩漬にしたもの
静岡	わさび漬、沢庵漬、わさび関連商品	わさび漬:わさびの根・茎を細断、塩漬したものを酒粕と混合したもの わさび茶漬:わさびの根・茎を細断、塩漬したものを三杯酢又は醤油漬にしたもの メロン漬:摘果メロンを塩漬したものを酒粕につけたもの
愛知	刻み醤油漬、福神漬、沢庵漬、調味浅漬、奈良漬、その他	渥美沢庵:渥美の乾燥たくあん 守口漬:守口大根の粕漬
三重	浅漬、沢庵漬	伊勢たくあん:よく干し上げられた大根をなすの葉、柿の皮、唐がらしを入れた米糠に漬け込んだもの 養肝漬:白瓜の中に瓜、茄子、きゅうり、大根、しその実等を詰めこみたまり漬にしたもの
滋賀	刻み漬、浅漬	日野菜漬:日野菜をぬか漬にしたもの さくら漬:日野菜を短冊切りにし酢漬にしたもの
京都	千枚漬、すぐき	しば漬:茄子、赤じその葉、みょうがを塩漬し発酵させたもの すぐき漬:すぐき菜の皮をむき塩漬し水洗いしたのち加温し乳酸発酵したもので、特有の酸味がある 千枚漬:聖護院かぶらを薄く輪切りにして塩漬し昆布と一緒に漬け込んだもの 菜の花漬:開花前の菜の花のつぼみを塩漬にしたもの
大阪	浅漬、生姜漬	奈良漬:瓜、きゅうり、小西瓜の粕漬
兵庫	奈良漬、浅漬、醤油漬	奈良漬:瓜、西瓜、きゅうり、守口大根、その他野菜の粕漬

奈良	生姜漬	奈良漬:瓜、きゅうり、小西瓜、大根などを粕漬に漬けたもの
和歌山	梅干、沢庵漬	梅干:日本一の生産を誇る良質の梅を梅干加工 紀の川漬:大根を麹、塩等で漬けたもの
鳥取		砂丘らっきょう漬:砂丘産の歯切れのよいらっきょう漬
島根		津田かぶ漬:赤紫色の津田かぶを糠みそに漬けたもの
岡山		
広島	広島菜漬、浅漬	広島菜漬:広島菜漬の塩漬及び醤油漬
山口		寒漬:大根を塩漬にした後、寒風にさらし、ときどき木づちでたたいて平たくのばしそれを春ごろまでくり返し、つばやかめに入れて密封し、発酵させる
徳島	刻み漬	
香川		そら豆漬:そら豆の醤油漬
愛媛		緋の蕪漬:緋のかぶを塩漬後、ダイダイ酢と砂糖で漬けたもの。緋色をした美しい漬物
高知	きゅうり醤油漬	ピーマン漬:高知ピーマンを漬物に仕上げたもの。ピーマン漬けものの元祖
福岡	高菜漬、沢庵漬、浅漬、醤油漬	高菜漬:高菜の塩漬及び醤油漬 貝柱、海茸粕漬:海産物の粕漬
佐賀	鯨軟骨粕漬	鯨軟骨粕漬:鯨の蕪骨を短冊状に切り塩をし脱水して酒粕に漬けこむ
長崎	刻み寒干漬他醤油漬	寒干漬:丸干大根を貯蔵し、仕入れのつど手切りあるいは機械細断して醤油漬する
熊本	浅漬、沢庵漬	阿蘇たかな:阿蘇山麓に栽培されている茎の細い高菜漬
大分	沢庵漬	細切野菜醤油漬:大根、人参の醤油漬
宮崎	沢庵漬、野菜刻み漬、浅漬	干し沢庵:干し大根を塩と糠でしっかりと漬けたもの 生漬沢庵:生の大根を干さずに塩押し、更に中漬けをし、糠等で本漬したもの
鹿児島	沢庵漬、つぼ漬、桜島大根の粕漬	つぼ漬:山川漬を小口切りにし、醤油で漬けたもの 桜島大根の粕漬:大きな桜島大根を輪切りにして酒粕に漬けたもの 山川漬:干し大根をつぼに漬け込んだもの
沖縄		パパイヤ漬:未熟のパパイヤを半切りにし、種子を除いて、粕漬、みそ漬、黒砂糖にする

