

平成 30 年度 厚生労働行政推進調査事業費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
小規模事業者等における HACCP 導入支援に関する研究
分担研究報告書

芽胞形成菌の温度管理による食品中での挙動及び制御方法の検討

研究分担者 五十君 静信 東京農業大学 教授

研究要旨

「食品衛生管理の国際標準化に関する検討会」では、今後の制度のあり方としてフードチェーンを構成する食品の製造・加工、調理、販売等を行う全ての食品等事業者を対象として、HACCP による衛生管理の手法を取り入れ、我が国の食品の安全性の更なる向上を図ることが示された。一方、現状を考慮し、「HACCP に沿った衛生管理（基準 A）」として、コーデックス HACCP の 7 原則を用件とするものと、「HACCP の考え方を取り入れた衛生管理（基準 B）」として、小規模事業者や一定の業種等を対象とした一般衛生管理を基本として、事業者の実情を踏まえた手引書等を参考に必要に応じて重要管理点を設けて管理するなど、弾力的な取扱いを可能とするものとしている。このような弾力的運用は、既に HACCP を導入している米国や EU でも採用されており、我が国がこのような弾力的運用を採用し実行するためには我が国の食品の衛生管理の実情に合わせた検討が必要であり、本分担研究ではその基礎となる科学的知見の収集、整理、提供等を行うことである。

食中毒患者数が依然として多く、微生物管理が重要と思われる食品業種毎（飲食店等）における手引書の実行性について研究を行った。「HACCP の考え方に基づく衛生管理のための手引書」（小規模な一般飲食店業者向け）の温度管理による微生物制御に関する基礎的知見と管理手段提供のため、芽胞形成菌の温度管理による食品中での挙動に関する検討及び制御方法の検討を行った。粘度の高い食材を用いた深鍋調理における鍋内の食材等の温度変化の検証、ウェルシュ菌の加熱処理における挙動に関して、模擬キッチンを用いた検討を行った。粘性の高い食材であるカレーソース類は水に比べ、深鍋外部の温度の影響を受け難く食材内の保温性が高まる鍋中間～鍋底においてウェルシュ菌の増殖に注意が必要であることが示唆された。

研究協力者

高柳 晃司	ホシザキ北信越株式会社
川宮 美由紀	ホシザキ北信越株式会社
曲尾 優花	ホシザキ北信越株式会社
金盛 幹昌	ホシザキ株式会社
高澤 秀行	高澤品質管理研究所
多賀 夏代	高澤品質管理研究所
戸田 政一	高澤品質管理研究所

るものと、HACCP の考え方を取り入れた衛生管理（基準 B）として、小規模事業者や一定の業種等を対象とした一般衛生管理を基本として、事業者の実情を踏まえた手引書等を参考に必要に応じて重要管理点を設けて管理するなど、弾力的な取扱いを可能とするものとしている。このような弾力的運用は、既に HACCP を導入している米国や EU でも採用されており、我が国がこのような弾力的運用を採用し実行するためには我が国の食品の衛生管理の実情に合わせた検討が必要であり、本研究班の目的はその基礎となる科学的知見の収集、整理、提供等を行うことである。

そこで、温度管理による微生物制御に関する基礎的知見と管理手段提供のため、芽胞形成菌の温度管理による食品中での挙動に関する検討及び制御方法の検討を行うことにした。

A. 研究目的

「食品衛生管理の国際標準化に関する検討会」では、今後の制度のあり方としてフードチェーンを構成する食品の製造・加工、調理、販売等を行う全ての食品等事業者を対象として、HACCP による衛生管理の手法を取り入れ、我が国の食品の安全性の更なる向上を図ることが示された。一方、現状を考慮し、HACCP に沿った衛生管理（基準 A）として、コーデックス HACCP の 7 原則を用件とす

B. 研究方法

芽胞形成菌の温度管理による食品中での挙動に関する検討及び制御方法の検討は、研修用の調理施設を用いて行った。

予備試験では、研修用の模擬キッチンを使い、カレーソース等の粘度の高い食材と水道水を用い深鍋調理における鍋内部食材等の表面、鍋中間部、鍋底の温度変化を検証した。市販カレー粉末を記載された調理方法通り調製したカレーソースと水（水道水）を入れた寸胴鍋を用意し各々の鍋に自動記録温度ロガー（センサー部分を鍋表面、鍋中間、鍋底）を設置しガスコンロにて加熱した。100℃に達した後、室温放置として0時間から27時間の各部分の温度変化を測定した（室温：28℃～30℃）同様な実験系にウェルシュ菌芽胞を人工的に接種し、加熱処理における当該芽胞の挙動に関して検討した。

予備試験の結果を基にして危険温度帯滞留時間とウェルシュ菌増殖の相関性、特に重要と思われるカレーソース調理後の冷却時間条件（室温放置及び水道水流水冷却）の違いによる冷却方法の実用性の検証を行った。食材へのウェルシュ菌の芽胞の人工接種実験では、ウェルシュ菌（*Clostridium prefringens*）H6162株、H6174株、NCTC8678株（市販株）を変法DS培地で37℃48時間培養後、加熱処理を行い耐熱性の確認を行った。80℃で10分間加熱後の生残率が高かったウェルシュ菌H6174株を添加回収実験に用いた。

本試験では、寸胴鍋に水を入れ沸騰後80℃まで放冷してウェルシュ菌を、 10^3 cfu/mlになるように添加し、空気が混ざらない様にゆっくりと攪拌した。これに事前に溶解したカレーソースを入れ、再度空気が混ざらない様にゆっくりと攪拌して全量を12Lとした（室温放置冷却用と水道水流水冷却用の2鍋を調製した）一方を室温放置冷却（室温24℃～25℃）、他方を水道水流水冷却（水温20℃～21℃、水流：15L/分）による冷却として、各々の鍋に自動記録温度ロガー（センサー部分を鍋表面、鍋中間、鍋底）を設置し温度、時間、AW、生菌数測定を行った。

生菌数測定用サンプルは鍋中間のカレーソースを採取した。生菌数測定は鍋中間温度60～70℃付近から開始し室温まで1時間毎行なった。詳しい手技や方法等については、別紙参照。

C. 研究結果

深鍋を用いた実験に関する詳しい内容等は、別紙に示した。

予備試験における深鍋中のカレーソースの表面、水の表面、水の間では室温放置後、ウェルシュ菌増殖危険温度帯（35℃～60℃）通過

時間は室温放置後いずれの場所でも1.5時間後に60℃、4.5時間後に35℃となった。ウェルシュ菌の増殖可能な危険温度帯滞留時間は、3.5時間であった。

カレーソース鍋中間ではウェルシュ菌増殖危険温度帯（35℃～60℃）通過時間は鍋中間では5.5時間後に60℃、14.5時間後に35℃となった。危険温度帯滞留時間は、9時間であった。鍋底では5.5時間後に60℃、12.5時間後に35℃となった。危険温度帯滞留時間は7時間であった。室温放置では、鍋表面では、0時間「62℃」で、3.5時間後「34℃」で、増殖危険温度帯滞留時間は、3.5時間であった。鍋中間では0時間「70℃」で、2.5時間後「61℃」で、9時間後「34℃」で、危険温度帯滞留時間は6.5時間であった。鍋底では0時間「64℃」で、0.5時間後「58℃」で、7.5時間後「34℃」で、危険温度帯滞留時間は7時間であった。温度測定開始後1時間毎に鍋中間から検体採取したが初発から生菌の検出は確認されなかった。

水道水での流水冷却では、鍋表面では、0時間「47℃」で、2時間後「3.4℃」で、危険温度帯滞留時間は2時間であった。鍋中間では、0時間「71℃」で、0.5時間後「63℃」で、3.5時間後「33℃」で、危険温度帯滞留時間は、3時間であった。鍋底では、0時間「53℃」で、0.5時間後「32℃」で、危険温度帯滞留時間0.5時間であった。温度測定開始後1時間毎に鍋中間から検体採取したが初発から菌の検出は確認されなかった

本試験における生菌数の測定が困難であったことから、より耐熱性の高い芽胞の形成方法の検討及び芽胞化のメカニズムや発芽に関する情報収集を行った。

D. 考察

予備試験では、研修用の模擬キッチンを使い、カレーソース等の粘度の高い食材と水道水を用い深鍋調理における鍋内部食材等の表面、鍋中間部、鍋底の温度変化を検証した。本試験では、予備試験とほぼ同様な方法で、食材等の温度変化を記録すると共に、最も芽胞形成率の高い菌株を添加し経時的に食材を採取しウェルシュ菌生菌の回収実験を行った。これらの一連の検討から、カレーソースのような粘性の高い食材は、水道水のような粘性の低い物と比べ、食材等の中間部から鍋底における温度変化は緩慢であり、ウェルシュ菌の増殖可能な危険温

度帯に相当する時間が長時間となり、このような温度変化が、ウェルシュ菌の増殖に結びつくことを示唆した。

本試験におけるウェルシュ菌の添加回収実験では、食材等の品温 80℃と若干低めの温度で芽胞を接種したにもかかわらず、生菌数の測定が困難であった。今後、添加回収実験には、より耐熱性の高い芽胞の作成が必要で、高温耐熱性の芽胞作成方法の検討及び芽胞化や発芽のメカニズムに関する基礎的な研究を行う必要があると思われる。

E. 結論

「HACCP の考え方に基づく衛生管理のための手引書」(小規模な一般飲食店業者向け)の温度管理による微生物制御に関する基礎的知見と管理手段提供のため、芽胞形成菌の温度管理による食品中での挙動に関する検討及び制御方法の検討を行った。粘度の高い食材を用い深鍋調理における鍋内の食材等の温度変化の検証、ウェルシュ菌の加熱処理における挙動に関して、模擬キッチンを用いた検討を行った。深鍋中の食材等の温度変化の観察結果から、粘性の高い食材であるカレーソース類は水に比べ、深鍋外部の温度の影響を受け難く食材内の保温性が高まる鍋中間～鍋底においてウェルシュ菌の増殖に注意が必要であることが示唆された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 五十君静信。食品安全の HACCP 制度化に関する動向。感染制御と予防衛生 2018 年 3 月号 (Vol.2 No.1) : 4-10 (2018.4)

2. 学会発表

- 1) 佐々木貴正、中山達哉、岡田由美子、百瀬愛佳、朝倉宏、五十君静信。採卵鶏農場におけるフルオロキノロン耐性カンピロバクター。日本獣医学会。2018.9.11-13 (つくば)
- 2) 中山達哉、佐々木貴正、朝倉宏、五十君静信。食鳥処理場における薬剤耐性大腸菌の汚染実態。日本食品衛生学会。2018.11.15-16。広島。

- 3) 佐々木貴正、中山達哉、百瀬愛佳、朝倉 宏、五十君静信。食鳥処理場における鶏肉の広域スペクトラムセファロsporin耐性サルモネラ汚染。日本食品衛生学会。2018.11.15-16。広島。

3. 講演会等での情報発信

- 1) 五十君静信。食品衛生管理の国際標準化はなぜ必要か～厚労省の HACCP 制度化検討状況～。一般社団法人感染予防協会主催。2018.5.23。福山市生涯学習プラザ。広島
- 2) 五十君静信。HACCP における迅速検査の重要性。AFI テクノロジーセミナー。2018.5.24。アプローズタワー。大阪
- 3) 五十君静信。HACCP における迅速検査の重要性と今後の方向性。AFI テクノロジーセミナー。2018.5.24 : 大阪アプローズタワー。2018.6.1 : フクラシア品川
- 4) 五十君静信。HACCP 導入の重要性と我が国の制度化の現状。日本醤油技術センター : 第 86 回醤油研究発表会。2018.6.8。横井講堂
- 5) 五十君静信。食肉の安全・安心の確保—HACCP 制度化の現状と微生物検査の考え方—。第 54 回全国食肉衛生検査所協議会全国大会。2018.7.18-19。万代シルバーホテル。新潟
- 6) 五十君静信。国際標準を指向する日本の食品衛生管理。AOAC JAPAN SECTION 第 21 回年次大会。2018.7.26。大田区産業プラザ PiO
- 7) 五十君静信、杉浦嘉彦。自主衛生管理時代における微生物検査のあり方。食×農 MOOC 特別対談。2018.8.7。ハイアットリージェンシー東京
- 8) 五十君静信。自主検査への簡易迅速微生物試験法の適用の可能性。JASIS カンファレンス 2018。2018.9.7。幕張メッセ
- 9) 五十君静信。食中毒の動向と工程管理における微生物検査の考え方。アルボースセミナー2018。2018.8.20 : アクロス福岡。2018.9.20 : 大阪千里ライフサイエンスセンター。2018.9.21 : 名古屋電気文化会館。2018.10.29 : 日比谷コンベンションホール
- 10) 五十君静信。国際基準を指向する日本の食品衛生管理。2018.9.28。日本食品衛生

物学会ランチョンセミナー。大阪市立大学

- 11) 五十君静信。HACCP 制度化の現状と食品の安全性確保。平成 30 年度宮崎県食肉衛生検査所協議会研修会。2018. 10. 20。宮崎県総合保健センター
- 12) 五十君静信。わが国の微生物検査法の策定状況と迅速簡便法導入の考え方。AOAC 日本セミナー2018。2018. 11. 14。大橋会館
- 13) 五十君静信。HACCP 制度化により食品の衛生管理はどのように変わるのだろうか。NPO 法人食の安全を確保するための微生物検査協議会研修会。2018. 11. 29。日本橋公会堂ホール
- 14) 五十君静信。HACCP 制度化における微生物検査の考え方。名古屋学芸大・栄養研究所：食品安全マネジメントシステム研修会。2018. 12. 21。名古屋学芸大学
- 15) 五十君静信。HACCP 制度化の経緯と今後の動向。東京農大総研食の安心と安全部会：第 1 回キックオフシンポジウム。2019. 1. 11。100 周年記念講堂。
- 16) 五十君静信。食品衛生法改正における

HACCP 制度化の経緯とその動向。平成 30 年度と畜場及び食鳥処理場における品質管理部門責任者等研修会。2019. 2. 18。熊本畜産流通センター

- 17) 五十君静信。国際整合性を見すえた食品衛生法の改正の要点・食中毒の現状と注意を必要とする食中毒起因病原体。日本食品工業倶楽部チルドセミナー。2018. 2. 26。東洋経済ビル
- 18) 五十君静信。微生物試験法をめぐる行政動向と妥当性確認の重要性・工程管理に合わせた微生物試験法の選択と自主検査での考え方。サイエンスフォーラム：2019 年度 微生物試験法の妥当性確認実務者講習会。2019. 3. 6。連合会館

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし

3. その他