

令和4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）

「小規模事業者における HACCP 検証に資する研究」

分担研究報告書

食鳥処理場における HACCP 外部検証に関する研究

～冷却水の時系列挙動について～

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	山本詩織	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
	中江優貴	静岡県食肉衛生検査所
	大畑克彦	静岡県食肉衛生検査所

研究要旨：我が国の大規模食鳥処理場については、管轄自治体の食鳥検査員による HACCP 外部検証が施行されており、冷却後食鳥とたいを対象とした微生物試験が行われている。関連事業者団体が作成した衛生管理のための手引書では、特に冷却工程が重要管理点（CCP）の一要素として例示されている。当該工程では、主として水温及び塩素濃度を測定項目として設定する施設が多い状況にあるが、食鳥処理はと畜場に比べて、処理速度が速く、かつ連続的な作業となることが想定されるため、時系列を追った実態の把握をもって、冷却水における塩素濃度等の設定の妥当性を評価することが、高度衛生管理を図る上で重要と思われた。そこで、本年度分担研究では、先行研究において、鶏肉製品の皮部位よりカンピロバクターがほぼ検出されない状況であった食鳥処理場の協力を得て、当該施設の冷却工程における冷却水中の塩素濃度や細菌数等に関する調査を行った。当該施設の冷却槽では次亜塩素酸 Na を断続的に注入していた。作業開始時から時系列を追って冷却水中における各試験項目の結果を確認したところ、残留塩素濃度に著変は認められなかったものの、遊離塩素濃度は速やかな下降を呈した。一方、ATP 値や pH 値、濁度等は穏やかな上昇を認めた。生菌数も徐々に増加傾向を示したが、腸内細菌科菌群は検出されなかった。また、約1時間の作業停止直後には濁度や ATP 値、一般細菌数は一過性の減少を認めた。以上の結果より、冷却水の衛生学的評価には、一般細菌数や ATP 値等を指標として処理状況を踏まえて複数ポイントでデータを取得することが望ましいと考えられた。

A. 研究目的

と畜場と同様、大規模食鳥処理場においては、HACCPに基づく衛生管理が必要とされ、関連事業者である日本成鶏処理流通協議会（現 日本成鶏処理流通協会）により「親鶏製品製造事業者（大規模食鳥処理場）向け HACCPに基づく衛生管理のための手引書」が2021年5月に発行された。同手引書においては、冷却工程を代表的な重要管理

点（CCP）として例示しており、残留塩素濃度及びモモ中心温度を主要な管理基準項目としている。

上述の手引書の発行を受け、その後、厚生労働省では「と畜検査員及び食鳥検査員による外部検証の実施について」（令和2年5月28日付、生食発0528第1号）を発出し、自治体の検査員による外部検証により、核

施設の衛生管理状況をHACCPに基づいてモニタリングし、必要に応じて改善指導へとつなげることを主な命題とする技術的助言を行った。

上述の手引書において示された冷却工程の管理基準としては残留塩素濃度が30ppm、モモ中心温度が10°C以下となっている。このうち、残留塩素濃度については、2時間毎に測定し、30ppm以上を維持していることを記録することを推奨している。一方でその効果については明確に示されていない状況であった。加えて、処理羽数や冷却槽の容量等により、同管理に求められる条件は異なってくるものと考えられたこと等から、本分担研究では、これまでに食鳥肉に係る重要な危害要因であるカンピロバクターが、最終製品からほぼ検出されない状況にあった事業所の協力を得て、同事業所における冷却槽内の冷却水に焦点を当て、衛生に係る試験項目の挙動を経時的に検討したので報告する。

B. 研究方法

1. 検体及び前処理

ある大規模食鳥処理場（以下、処理場 A）において、冷却槽中の冷却水を処理開始直後（0 時間後）より、1 時間後、2 時間後、4 時間後、5 時間後及び 6 時間後にそれぞれ採水した。採水後、直ちに残留塩素濃度を測定し、次亜塩素酸ナトリウムの中和剤の一つであるチオ硫酸ナトリウムを採水検体 1 L へ添加し、冷蔵温度帯で保存・輸送した。また、残液についてはチオ硫酸ナトリウムを添加せず、理化学試験用検体として採水から 10 分以内に測定を行った。

2. 理化学試験

冷却水検体の理化学試験項目としては、pH、残留塩素濃度、遊離塩素濃度、濁度、ATP 値、TDS 値及び水温を設定した。

3. 微生物学的試験

冷却水検体は採水から 24 時間以内に一般細菌数、腸内細菌科菌群、大腸菌（ β -グルクロニダーゼ産生大腸菌）の定量試験のほか、カンピロバクターとサルモネラ属菌の定性試験に供した。これらのうち、一般細菌数については 30°C にて 3 日間培養を行い、結果を求めた。

4. 菌叢解析

中和非処理群の水検体残液を遠心分離し、得られた沈査より全 DNA を抽出した。これを鋳型として、16s rRNA V5-V6 領域を PCR 増幅し、Ion Torrent PGM システムを用いたシーケンス反応を行った。得られたデータをトリミング処理後、Metagenome@KIN を用いて、階層分類等を行った。

C. 結果

1. 調査対象施設における冷却槽内への塩素添加方式に関する情報収集

処理場 A では、冷却槽への塩素の添加にあたり、蛇口から断続的に冷却槽へ注入する方式がとられていた。

2. 処理工程を通じた冷却水の理化学性状 (i) 塩素濃度

残留塩素濃度は処理 0 時間後の時点で 65 ppm であり、処理 2、4、6、7 時間後の同値はそれぞれ 55 ppm、49 ppm、56 ppm、

51 ppm、60 ppmであった（図 1A）。

一方、遊離塩素濃度は処理 0 時間後の時点で 5.10 ppm であったが、処理 1 時間後には 0.07 ppm へと著減し、処理 2、4、6 時間後の同値もそれぞれ 0.05、0.40、<0.01 ppm を示した。処理 7 時間後には再び 4.26 ppm へと上昇した（図 1A）。

(ii) pH

pH は処理 0 時間後の時点で 8.54 であった。処理 1 時間後には 8.66、処理 2 時間後には 8.74 を示し、処理 4、6、7 時間後の同値はそれぞれ 8.92、8.96、8.99 であった（図 1B）。

(iii) 濁度

濁度は処理 0 時間後には 1.38 であったが、処理 1 時間後には 9.68 へと上昇し、処理 2、4、6、7 時間後にはそれぞれ 13.76、39.63、35.70、43.60 となった（図 1C）。

(iv) ATP 値

ATP 値は処理 0 時間後には 3 であったが、処理 1 時間後には 29,126、処理 2 時間後には 38,248、処理 4 時間後には 74,062 を示した。処理 6 時間後には 65,192 とやや減少を呈したが、処理 7 時間後には 87,888 と再び上昇を示した（図 1D）。

(v) TDS 値

TDS（総溶解固形物）値は処理 0 時間後には 391 μ S であったが、処理 1 時間後には 617 μ S、2 時間後には 801 μ S、4 時間後には 1,176 μ S、6 時間後には 1,516 μ S、7 時間後には 2,020 μ S を示した（図 1E）。

(vi) 水温

水温は処理 0 時間後では 8.50°C であり、処理が進むにつれてわずかに上昇傾向を認めたが、最大値は 9.40°C であり、測定期間を通じて 10°C を上回ることにはなかった（図

1F）。

3. 処理工程を通じた冷却水の微生物性状

(i) 一般細菌数

一般細菌数は処理 0 時間後で 2.1 cfu/mL、処理 1 時間後ではすべて不検出（<1.0 cfu/mL）であり、処理 2 時間後においても 3 検体中 2 検体が不検出であった。処理 4 時間後には、26~33 cfu/mL と増加したが、処理 6 時間後には一時的に 7.1~13 cfu/mL へと減少した（図 2）。ただし、処理 7 時間後には 23~48 cfu/mL へと再び増加傾向を示した（図 2）。

(ii) 腸内細菌科菌群及び大腸菌

腸内細菌科菌群及び大腸菌は全ての検体で不検出であった。

(iii) カンピロバクター及びサルモネラ

カンピロバクター・ジェジュニ／コリ及びサルモネラ属菌は全ての検体より検出されなかった。

4. 処理工程を通じた冷却水中の菌叢変動

処理 0、1、2、4、6、7 時間後の各時点における冷却水中の細菌叢構成の変動について検討するため、16s rRNA を標的とした菌叢解析を行った。処理 0 時間後においては、環境水との関連性の高い *Phyllobacterium* 属が全体の約 84.5% を占めたが、同菌属の占有率は処理 1 時間後以降、0.01% 未満となった（図 3）。これに対し、廃水との関連性が報告されている *Cloacibacterium* 属や、土壌や水との関連性が報告されている *Methylobacterium* 属、*Escherichia* 属並びに *Salmonella* 属の占有

率は処理 0 時間後には低かったものの、処理の経過に伴い、一過性あるいは持続性の増加を認めた（図 3）。直接的な糞便汚染指標である *Escherichia* 属については、処理 2 時間後には約 12.2%の一過性の高い占有率を示したほか、*Salmonella* 属菌は処理 6 時間後に約 9.9%と高い占有率を一過性に示した（図 3）。

D. 考察

本分担研究では、関連事業者団体が大規模食鳥処理場における衛生管理のために作成した手引書において、重要管理点として例示される冷却工程に焦点を当て、同工程の冷却水中の物性及び微生物学的挙動をモニタリングした。

物性試験項目のうち、水温や pH、更には残留塩素濃度は測定期間を通じて著変することなく推移した。残留塩素濃度が比較的安定的に維持された背景には、対象施設では塩素注入が断続的に行われていたためと想定される。

一方、遊離塩素濃度は処理 1 時間後から明確な減少を示した。遊離塩素は殺菌効果の主体であるが、有機物との接触により速やかに分解されることが知られている。それにもかかわらず、一般細菌数が大きく上昇しなかった主な理由としては、上述の断続的な塩素注入と十分な攪拌、並びに冷却槽内に一定数以上の食鳥とたいを貯留させていなかったこと等があると目される。

その他の物性試験項目のうち、濁度及び TDS 値は経時的な上昇を認めた。また、ATP 値も経時的な上昇を認めたが、処理 6 時間後には若干の減少を示した。採水を行った施設での処理時間軸として、処理 4 時

間後では 1 ロット目の食鳥とたいの処理が終わったところであり、その後、処理 6 時間後の時点までの間には処理が行われない時間帯が設けられていた。この間の塩素の断続的な注入が ATP 値の一時的ながらも減少を導いた可能性が推察される。

微生物試験では、一般細菌数を除き、糞便汚染指標菌並びにカンピロバクター・ジェジュニ／コリ及びサルモネラ属菌は検出されなかった。本成績から、微生物試験により冷却水をモニタリングする際には一般細菌数を対象とすることが妥当と考えられた。一方で、菌叢解析結果からは、*Escherichia* 属及び *Salmonella* 属由来遺伝子が一過性ながら検出された。従って、これらの健康被害をもたらす可能性のある細菌をモニタリング対象とする際には、中抜き等の前処理工程の状況やロットの差異等を踏まえつつ、複数の時系列で評価を行う必要があると考えられる。

外部検証の試験対象部位である冷却後食鳥とたいの鶏皮試料で安定性を欠く、或いは高い数値が微生物試験により認められる場合に検討すべき事項の一つとして冷却工程の適切な管理を確認することは既に認知されつつあるが、本分担研究の成績がその確認手段を見定める一助となることを期待する。

E. 結論

本分担研究では、衛生的な鶏肉製品を提供していた、ある大規模食鳥処理場の協力を得て、重要管理点として手引書等で例示される冷却工程に焦点を当て、冷却水の物性及び微生物の動態を経時的に評価した。結果として、断続的な塩素注入や処理速度

を安定的に設定・運用していることにより、塩素濃度や pH、水温、更には一般細菌数を安定的に制御することが可能となっている可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) 朝倉宏、山本詩織、吉富真理、中馬猛久、森田幸雄. 馬とたいに対する HACCP 外部検証微生物試験法の設定に向けた検討. 第 42 回日本食品微生物学会学術総会.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

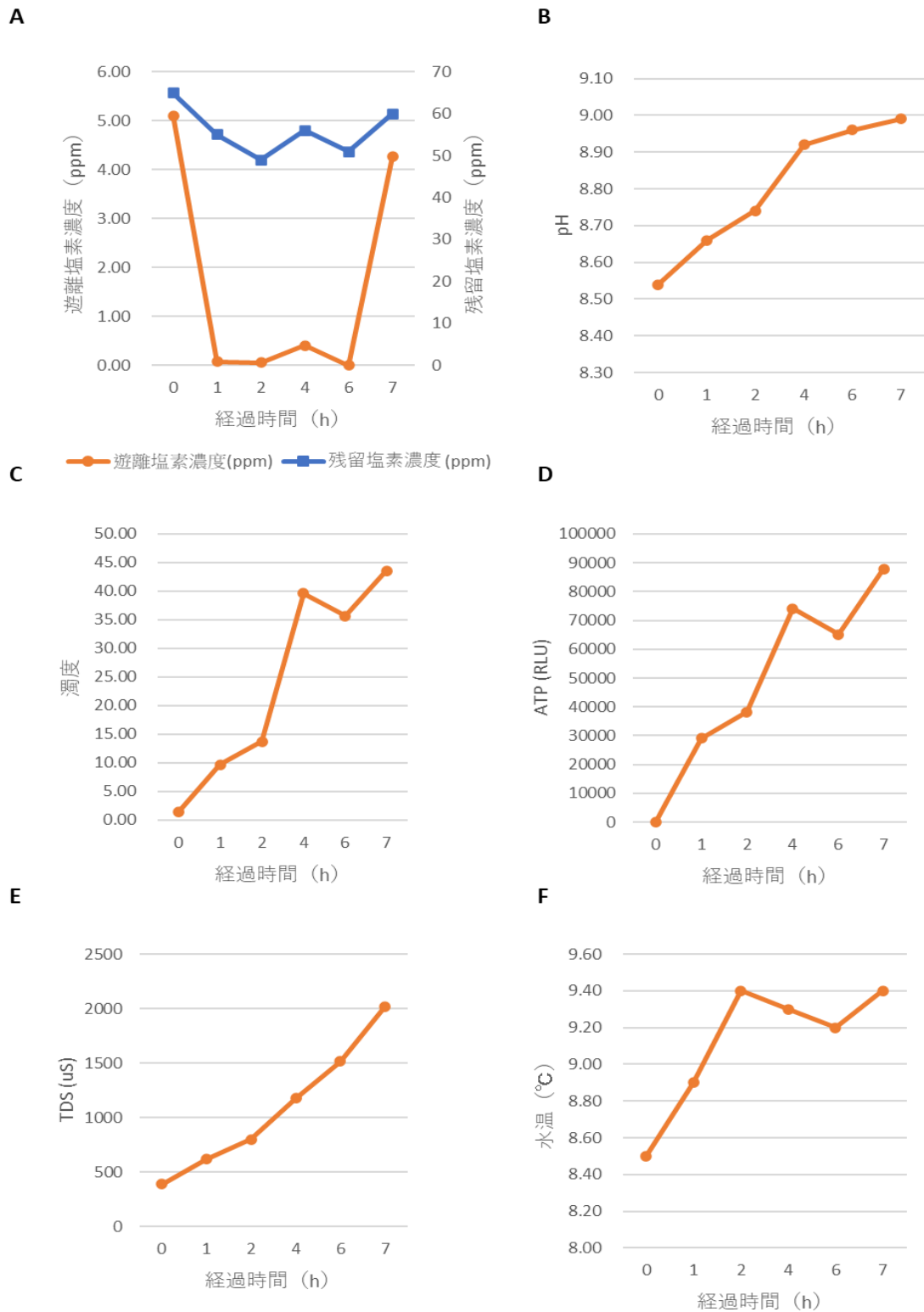


図1. 食鳥処理工程を通じた冷却水中の各種物性の挙動について.

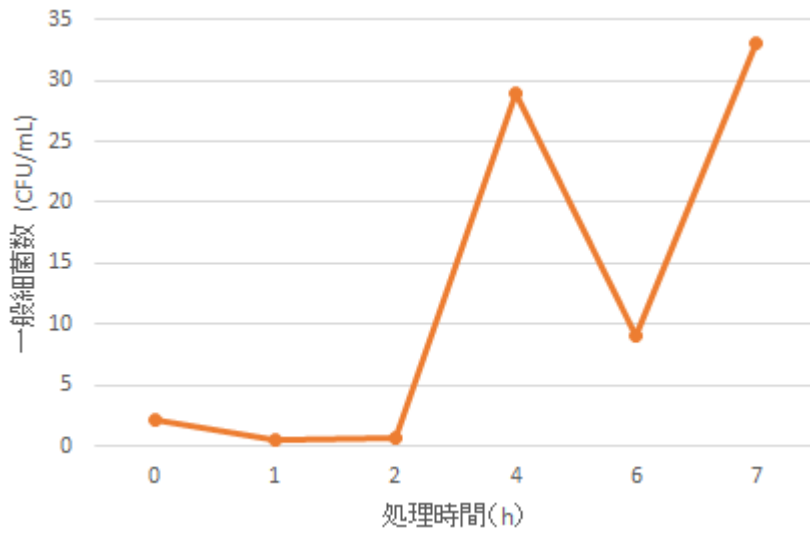


図2. 食鳥処理工程を通じた冷却水中の一般細菌数の挙動について.

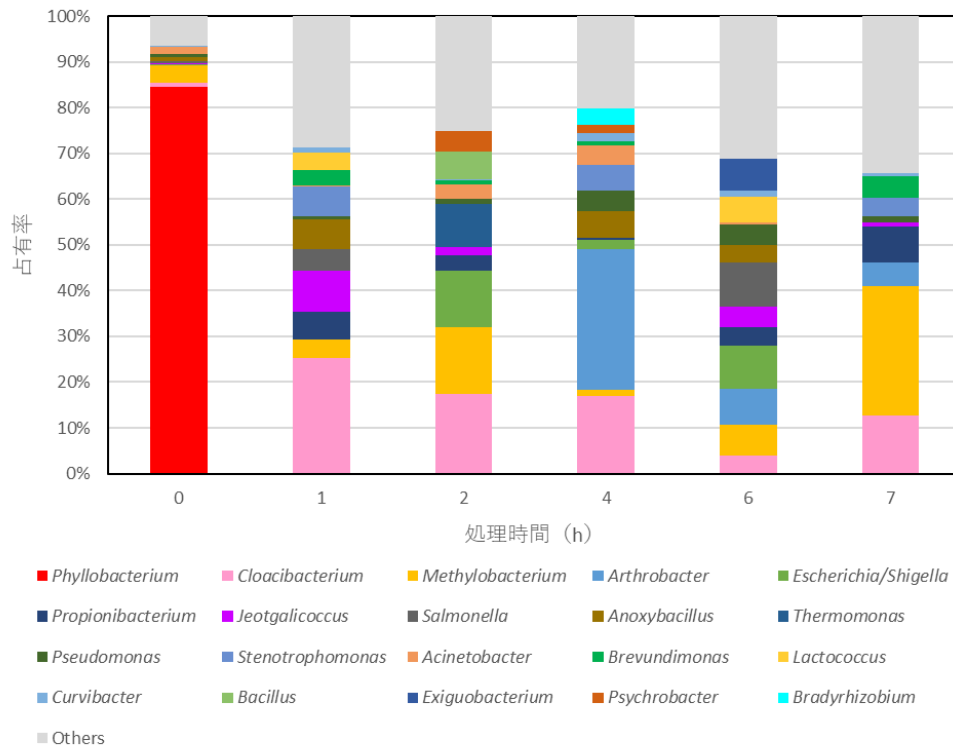


図3. 食鳥処理工程を通じた冷却水中の菌叢変動について.