

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）
「国際的な基準に基づく HACCP システムの導入に資する研究」
令和 7 年度分担研究報告書

市販ナッツ類における生物学的危害要因の検討

研究分担者 溝口嘉範 武庫川女子大学食物栄養科学部食創造科学科 准教授

研究要旨：平成 30 年 6 月に食品衛生法等が改正され、原則として全ての食品等事業者に対して HACCP に沿った衛生管理の実施が制度化され、令和 2 年 6 月 1 日から施行された。本研究では食品等事業者が自らの確な危害要因分析と分析結果に基づく管理措置の決定及び HACCP 導入後の検証を適切に行い、国際的な基準に適合した HACCP システムを無理なく構築することを可能とするツールや教育資料等を開発し支援すること目的とした。HACCP に基づく衛生管理の導入前、導入後、あるいは、製造工程の変更時に危害要因を適切に列挙する必要がある。生物学的危害要因の列挙するためには製品の試験検査も必要になる。本研究では国内で流通する市販ナッツ類（アーモンドおよびクルミ）の微生物学的安全性を評価した。ナッツ類は低水分食品に分類され、細菌の増殖は抑制されるものの、サルモネラ属菌等の食中毒菌が長期間生存し、かつ熱耐性を獲得するリスクが指摘されている。そこで、加熱加工、二次加工（粉砕）、および脱酸素剤封入パッケージが微生物指標と水分活性に与える影響を明らかにし、実務的な衛生管理の要点を提示することを目的とした。

本研究により、水分活性が極めて低い市販ナッツ類においても、腸内細菌科を含む微生物が高い生存能力を維持していることが実証された。水分活性が 0.4 程度の乾燥下でも衛生指標菌が検出され、低水分が安全の保証にならないことが明らかになった。微生物が増殖せずとも生残している事実は、低感染量で発症する病原細菌の危害要因が製品の賞味期限内にわたって持続すると考えられた。また、同一ロット内の不均一な汚染（スポット状汚染）の実態が明らかになった。生ナッツ製品における加熱の必要な旨の表示による製造者や消費者への注意喚起が、現在の流通実態におけるリスク回避の鍵である。今後は、乾燥環境下での病原細菌の熱耐性強化メカニズムおよび長期保存中の生残メカニズムを解析し、低水分食品に特化した安全基準を検討する必要がある。

A. 研究目的

平成 30 年 6 月に食品衛生法等が改正され、原則として全ての食品等事業者に対し

て HACCP に沿った衛生管理の実施が制度化され、令和 2 年 6 月 1 日から施行され、令和 3 年 6 月 1 日に完全施行された。

食品取扱従事者が 50 名以上の大規模な食品製造・加工業者に対しては、国際的な基準（コーデックス規格）に適合した HACCP に基づく衛生管理を実施することが義務付けられており、対象の事業者は自ら、あるいはコンサルタントや保健所の支援を受けながら HACCP に基づく衛生管理を実施しているところである。

HACCP に沿った衛生管理の義務化から 5 年が経過し、衛生管理の見直しが必要になってきている。本研究では食品等事業者が自らの確かな危害要因分析と分析結果に基づく管理措置の決定及び HACCP 導入後の検証を適切に行い、国際的な基準に適合した HACCP システムを無理なく構築することを可能とするツールや教育資材等を開発し支援すること目的としている。

HACCP に基づく衛生管理の導入前、導入後、あるいは、製造工程の変更時に危害要因を適切に列挙する必要がある。生物学的危害要因の列挙するためには製品の試験検査も必要になる。

そこで、国内流通する市販ナッツ類を対象に、低水分環境における微生物の生残実態を調査し、潜在的な生物学的ハザードを評価した。ナッツ類は水分活性が低いため微生物の増殖は起こらないが、サルモネラ等の病原細菌は乾燥ストレス下で長期間生存し、かつ熱耐性を著しく高める特性を持つ。本研究では、実測された衛生指標菌と水分活性のデータから、低水分状態が必ずしも安全の保証にならないことを実証し、HACCP におけるリスク管理の妥当性を検証する。

B. 研究方法

1. 供試検体

国内小売店より購入したアーモンド 3 製品および生クルミ 1 製品を対象とした。すなわち、検体 A は皮付生アーモンドホール（X 社、原産国：米国、表示：「必ず加熱処理してご使用下さい」）、検体 B はアーモンドロースト（Y 社、原産国：米国、ロースト済み）、検体 C は皮無生アーモンドプードル（Z 社、原産国：米国、加工地：日本、表示：「必ず加熱処理してご使用下さい」）、検体 D：生クルミ（X 社、原産国：米国、表示：「必ず加熱処理してご使用下さい」）であった。各製品 1 kg から $N=5$ のランダムサンプリングを行い、計 20 検体を供試した。

2. 微生物検査

一般生菌数、大腸菌群、大腸菌、腸内細菌科菌群の検出

各検体について、約 25g を正確に秤量し、滅菌ストマフィルターに入れ、その 9 倍量の滅菌生理食塩水(0.9%NaCl)を加えて、手もみで 1 分間ホモジネートしたものを試料原液とした。

一般生菌数、大腸菌群、大腸菌、腸内細菌科菌群の検出にはペトリフィルム™培地（NEOGEN 社）を使用した。一般生菌数は AC プレート、大腸菌群および大腸菌は EC プレート、腸内細菌科菌群は EB プレートを使用した。取扱説明書に従い試料原液やその段階希釈液を 1ml ずつ接種し、培養した。培養条件は一般生菌数および大腸菌群については $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、 48 ± 3 時間、好氣的、大腸菌については $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、 48 ± 4

時間、腸内細菌科菌群については $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 、 24 ± 2 時間とし、生育した定型コロニーを目視でカウントした。

サルモネラ属菌の検出

サルモネラ属菌の検出はサルモネラ属菌標準試験法 (NIHSJ 01:2019、国立医薬品食品衛生研究所) に準拠した。すなわち、各検体について、25g をストマフィルターに無菌的にとりわけ、緩衝ペプトン水 (ISO 処方) (アキュディア™、BPW ISO 処方、島津ダイアグノスティクス) 225 mL を加え、手もみで 1 分間ホモジネートし、培養した。その培養液の一部を RV (Rappaport-Vassiliadis) 培地 (アキュディア™、島津ダイアグノスティクス) と TT (Tetrathionate) 培地 (プチット-TT、株式会社日研生物) で選択増菌培養後、2 種類の分離寒天培地 (MLCB (アキュディア™、島津ダイアグノスティクス)、およびクロモアガーサルモネラ (CHROMagar™ Salmonella、関東化学株式会社)) に塗抹培養し、集落の形成を観察した。サルモネラと疑われる集落 3 個を TSI 寒天培地 (アキュディア™、島津ダイアグノスティクス) および LIM 培地 (アキュディア™、島津ダイアグノスティクス) に接種し、生化学的性状の確認を行った。

3. 理化学検査

供試検体を乳鉢で荒く破碎し、水分活性測定装置 (AW-1s・電気抵抗型センサー、柴田化学株式会社) で取扱説明書に従い水分活性を測定した。

C. 研究結果

1. 微生物検査 (表)

4 製品について、N=5 で衛生指標菌の検査を実施し、サルモネラ属菌および大腸菌はすべて陰性であった。しかし、他の衛生指標菌については、製品の種類や加工形態によって差が認められました。

・一般生菌数

製品の加熱履歴を最も顕著に反映していた。ローストアーモンドは 5 検体とも不検出であり、加熱工程が微生物の低減に極めて有効であることが実証された。皮付生アーモンドホールについては、 $2.23 \sim 2.52$ Log CFU/g と、供試検体で最も高い菌数を示した。生クルミについては、 $1.88 \sim 2.28$ Log CFU/g の範囲であった。皮無生アーモンドブードルについては、水分活性が 0.60 を超えていたにもかかわらず、菌数是不検出 ~ 1.18 Log CFU/g と低値であった。

・腸内細菌科菌群 (EB) および大腸菌群

生アーモンドについては、N=5 のうち 1 検体からのみ、 1.70 Log CFU/g の腸内細菌科菌群が検出された。同じパッケージ内でも他の 4 検体は不検出であり、汚染が局所的に存在している実態が確認された。生クルミについては、N=5 のうち 2 検体から、 0.70 Log CFU/g の大腸菌群および腸内細菌科菌群が検出された。アーモンドローストおよび生アーモンドブードルについては、衛生指標菌はいずれも検出限界未満であり、製造工程での衛生管理が一定水準に保たれていることが示唆された。

2. 理化学検査

各検体の水分活性の測定値は表のとおりであった。

D. 考察

1. 低水分活性下における微生物の生残とハザード

本研究で、水分活性が 0.4 前後の極めて乾燥した検体（A 皮付生アーモンドホール、D 生クルミ）から、最大 2.52 Log CFU/g の一般生菌および 1.70 Log CFU/g の腸内細菌科菌群が検出された。低水分食品において細菌は、適合溶質の蓄積や細胞内の「ガラス化」現象により、代謝を停止させたまま長期間（1 年以上）生残する。今回の結果は、乾燥ストレスが微生物を死滅させるのではなく、むしろ安定的に保護している実態が示唆された。サルモネラ属菌等の病原細菌は、10～100 CFU という極めて少量の摂取で食中毒を引き起こす「低感染量」の特性を有するため、今回検出されたレベルの衛生指標菌の存在は、重大な生物学的危害要因の潜在を意味する。

2. ナッツの物理構造による汚染の保持

検体 D（生クルミ）において、アーモンドよりも高い頻度で腸内細菌科菌群や大腸菌群が検出されたことは、クルミの複雑な表面構造（微細な溝や間隙）が、細菌にとってのシェルターとして機能している可能性を示唆している。乾燥環境下ではこれらの構造が外部の物理的・化学的攻撃から菌を遮断し、生残性をさらに高めている可能性がある。

3. 加工と脱酸素剤の影響

検体 C（アーモンド粉末）では水分活性が平均 0.63 であり、微生物が増殖可能な領域にあったが、菌数は低値であった。これは製造工程でのブランチング（熱湯殺菌）と脱酸素剤による好気性菌の抑制が寄与していると考えられた。

4. 加熱用表示の正当性

生ナッツ製品に共通する「必ず加熱処理して」との指示は、単なる品質保持の推奨ではなく、本研究で実証された「乾燥による細菌の生残リスク」への対応も意味していた。

E. 結論

本研究により、水分活性が極めて低い市販ナッツ類においても、腸内細菌科を含む微生物が高い生存能力を維持していることが実証された。水分活性が 0.4 程度の乾燥下でも衛生指標菌が検出され、低水分が安全の保証にならないことが明確になった。微生物が増殖せずとも生残している事実は、低感染量で発症する病原細菌の脅威が製品の賞味期限内にわたって持続すると考えられた。同一ロット内の不均一な汚染（スポット状汚染）の実態が明らかになった。生ナッツ製品における加熱用表示による製造者や消費者への注意喚起が、現在の流通実態におけるリスク回避の鍵である。今後は、乾燥環境下での病原細菌の熱耐性強化メカニズムおよび長期保存中の生残メカニズムを解析し、低水分食品に特化した安全基準を検討する必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

アンケートから見出された HACCP に基づく衛生管理に関する食品等事業者及び保健

所の現状と課題：溝口嘉範，五十君静信，
第 46 回日本食品微生物学会学術総会，
2025 年，川崎市

食品衛生に関する消費者の知識・行動が飲
食店選択に及ぼす影響について：熊谷優子，
溝口嘉範，窪田邦宏，第 46 回日本食品微生物学会学術総会，2025 年，川崎市

公共および民間データの比較に基づく食品
への異物混入被害状況の把握：田村 克，佐
藤邦裕，井之上 仁，寺嶋 昭，田近五郎，
村杉 潤，藤村 晶，熊谷優子，溝口嘉範，
天沼 宏，五十君静信，窪田邦宏，第 121
回日本食品衛生学会学術講演会，2025 年，
東京都

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表. 各検体の微生物検査結果

検体	一般生菌数 (Log cfu/g)	大腸菌 (Log cfu/g)	大腸菌群 (Log cfu/g)	腸内細菌科菌 群 (Log cfu/g)	サルモネラ属 菌 (/25g)	水分活性
A: 生アーモンドホール	2.40 (2.23-2.52)	ND ^a	ND	0.34 (ND-1.70)	陰性	0.40 (0.39-0.41)
B: アーモンドロースト	ND	ND	ND	ND	陰性	0.27 (0.27-0.29)
C: 生アーモンドプードル	0.81 (ND-1.18)	ND	ND	ND	陰性	0.63 (0.61-0.65)
D: 生クルミ	2.07 (1.88-2.28)	ND	0.28 (ND-0.70)	0.28 (ND-0.70)	陰性	0.43 (0.41-0.46)

上段は平均、下段の括弧内は範囲

^aND, not detected.