

令和 2 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）

「小規模事業者における HACCP 導入支援に関する研究」

分担研究報告書

加糖餡製品における黄色ブドウ球菌の増殖挙動に関する研究

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
	窪田 邦宏	国立医薬品食品衛生研究所	安全情報部
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

研究要旨

本研究では、加糖餡製品の保管条件として冷蔵保管が求められないものが多い実態、並びに製造加工工程での作業従事者からの交叉汚染の可能性、更には前年度の成績として水分活性・糖度が製品間で多様性に富む状況にあること等を勘案して、加糖餡製品における黄色ブドウ球菌の経時的挙動を評価し、保存条件としての妥当性を考察することとした。*Staphylococcus aureus* NBRC 12732 株を用いた検討の結果、水分活性（Aw）が約 0.88 の A 製品では 5℃及び 15℃、Aw 約 0.91 の B 製品検体では 5℃、15℃、25℃、Aw 約 0.96 の C 製品検体では 5℃のみが被験菌株の増殖を制御するに有効な温度条件であることが示された。A・B 製品の保管条件は冷暗所となっており、日本薬局方による室温保存 15～25℃を参照した場合、15℃未満と見做される冷暗所保管は黄色ブドウ球菌の増殖を制御するに妥当であると判断された。

A. 研究目的

我が国では食品衛生法の改正（平成 30 年 6 月 13 日公布）を受け、食品衛生管理手法の国際標準化を図るため、コーデックスガイドラインに基づく HACCP 手法を用いた衛生管理の制度化が進められ、令和 2 年には施行が通知されるに至った。令和 3 年 6 月からは本格施行を迎える中、特に小規模事業者による「HACCP の考え方を取り入れた衛生管理」の導入・運用を科学的側面から速やかに支援する必要がある。

国内の食品等事業者の多くは小規模事業者（従業員数 50 名未満）であり、「HACCP の考え方を取り入れた衛生管理」で求められる弾力的な衛生管理の導入・運用を図るためには、まず対象となる食品の性質等を知り、工程管理の現状を踏まえたリスク管理の在り方を定める必要がある。

菓子製品のうち、餅や大福等に代表される和生菓子については、「加熱後手細工加工等が入る

菓子」に属し、他 4 種類に比べると特に食中毒発生事例が多いとする報告もある。近年和生菓子の製造加工にあたっては、他事業者が製造加工した加糖餡を原料として受入れる場合が多い。加糖餡の製造加工では、複数回の水晒し工程が設けられているが、これらは重要な化学的有害要因であるシアン化合物の除去・低減に資するものと位置づけられている（本年度分担研究報告書として別途提出）。このほか、加糖餡の生物学的有害要因としては、ノロウイルスや黄色ブドウ球菌、セレウス菌等が挙げられる。これらのうち、ノロウイルスについては、食品中での増殖の可能性はなく、食品取扱従事者等からの二次汚染を原因とする事例が多くを占めるとされる。一方、毒素型食中毒菌である黄色ブドウ球菌は製造加工過程での作業従事者等からの交叉汚染や原料豆に由来する生残を起点として、その後の製品の不適切な温度管理によって増殖を招き、結果として毒素産生を誘起するおそれがある。

同潜在的な危害要因の制御策の有効性に関連し、昨年度の分担研究では、事業者が実施している糖度計を用いた確認手法は水分活性と高い相関性を有するため、合理的な工程管理策であることを報告した。一方で、市販流通される加糖餡製品については製品間で多様な水分活性・糖度を示し、一部製品では黄色ブドウ球菌の増殖を許容するとされる0.85以上の水分活性を示すことも確認された。

上記の点を踏まえ、本年度は異なる水分活性・糖度を示す加糖餡製品における黄色ブドウ球菌の消長について、添加回収試験を通じた検討を行い、適切な保管条件に関する考察を行ったので報告する。

B. 研究方法

1. 供試検体

前年度に供試した加糖餡製品105検体の水分活性(A_w)値および糖度(BRIX)の成績を基に、加糖餡製品3製品を入手し、供試検体とした。検体のA_w及びBRIX(平均値±SD)は、製品Aが0.878±0.004及び62.8±0.55%、製品Bが0.909±0.003及び57.3±0.19%、製品Cが0.961±0.005及び40.8±0.19%であった。いずれも製品表示で食品添加物含有は認められなかった。

2. 添加回収試験

一夜培養した *Staphylococcus aureus* NBRC 12732 株を約 2.37~2.83 logCFU/g となるよう各検体に接種し、脱気密封後、5℃、15℃、25℃、35℃下でそれぞれ保存した。接種後 3、7、14、21、28 日目に各 3 検体を取り出し、90 mL の緩衝ペプトン水 (BPW, pH7.4) を加え、1 分間ストマッキング処理を行い、検体懸濁液を調整した。その後、BPW を用いて 10 倍階段希釈液を作製し、ベアードパーカー寒天培地に検体懸濁原液及び同希釈液 1mL を混釈法により接種し、培養後の発育集落数を求めた。

C. 研究結果及び考察

1. 加糖餡検体での *S. aureus* の増殖挙動

S. aureus NBRC 12732 株の各加糖餡検体中での生存・増殖挙動を評価した。最も低い水分活性を示した A 製品検体では、5℃、15℃、25℃下では保存 28 日経過目まで黄色ブドウ球菌被験菌株の増殖は認められなかった。一方、35℃下において、同菌株は保存 7 日目で 3.61±0.38 log CFU/g、14 日目では 5.31±0.20 log CFU/g へと増殖を示した (図 1A)。

昨年度収集した加糖餡製品検体の中で、平均的な A_w 値を示した B 製品検体において、黄色ブドウ球菌被験菌株の明確な増殖は 25℃及び 35℃下で認められ、25℃下では保存 7 日目、35℃下では保存 3 日目における菌数はそれぞれ 4.47±0.04 logCFU/g、7.76±0.06 logCFU/g であった (図 1B)。

最も高い水分活性を示した C 製品検体においても 5℃下では被験菌株は増殖を示さなかったが、15℃下では保存 7 日目で 5.38±0.07 log CFU/g、25℃及び 35℃下では保存 3 日目で 7.59±0.09 log CFU/g 又は 8.03±0.03 log CFU/g と速やかな増殖を示した (図 1C)。

D. 考察

本研究では、異なる A_w・BRIX 値を示す加糖餡製品における黄色ブドウ球菌の経時的増殖性を検討し、製品間で当該菌の増殖を制御し得る保存温度条件が異なることが確認された。

食品一般の冷蔵保存条件は 10℃以下とされるが、前年度多製品を収集した、加糖餡製品では、表示上で冷蔵保管を求める製品は僅かであった。その中の一つに含まれる C 製品検体では 15℃下でも黄色ブドウ球菌の増殖を認めたことを踏まえると、冷蔵を保管条件とすることは妥当であると考えられた。

残りの A・B 製品検体については冷暗所で保管することが表示上、求められていた。これらの製品内で黄色ブドウ球菌の明確な増殖が認め

られたのは 25℃または 35℃下であったが、常温保存が日本薬局方で述べられる 15～25℃を指すとした場合の冷暗所の定義は 15℃未満を安定的に維持できる場所と想定され、そうであれば、当該製品検体の保存条件は C 製品検体と同様に妥当と考えられる。食品中の微生物動態に係る予測モデルデータベースである Com Base(<https://www.combase.cc/index.php/en/>)に、加糖餡製品を食品マトリックスとしたモデルは存在しないが、Aw 値及び菌種・初発菌数を入力した際の予測結果は、本研究で得られた結果に近似しており、加糖餡製品における黄色ブドウ球菌の増殖に影響を及ぼす要因は、主に環境温度及び水分活性であることが示唆された。

本研究を通じ、加糖餡製品の保存条件は概ね妥当と見做される知見が得られた。一方、食品の保存条件に関する取り決めについて、特に保存中の微生物増殖をリスク管理する必要があるものについては優先的に検討することが今後必要と考えられる。シアン化合物（主にシアン配糖体）を含有するおそれのあるインゲン豆を原料として製造加工される加糖餡製品については、適切な製造工程管理を通じ、シアン化合物の除去が達成される実態を確認することができた。事業者間で製造工程に多様性が想定される際には、確実なシアン化合物の除去を担保できるよう、各事業者は自らの製造工程を確認し、適切な工程管理を設定すべきと考えられる。また、本研究において妥当性評価を行った定量試験法については、多検体の測定も可能であることから、今後の活用も期待される。

E. 結論

計 3 種の異なる水分活性・糖度を示す加糖餡製品を対象に、黄色ブドウ球菌の増殖挙動を評価し、各製品検体の表示で示される条件により、当該食中毒菌の増殖を概ね制御できることが示された。但し、冷暗所等、食品衛生法で定

義が明確ではない用語の整理は今後検討が必要な課題と考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

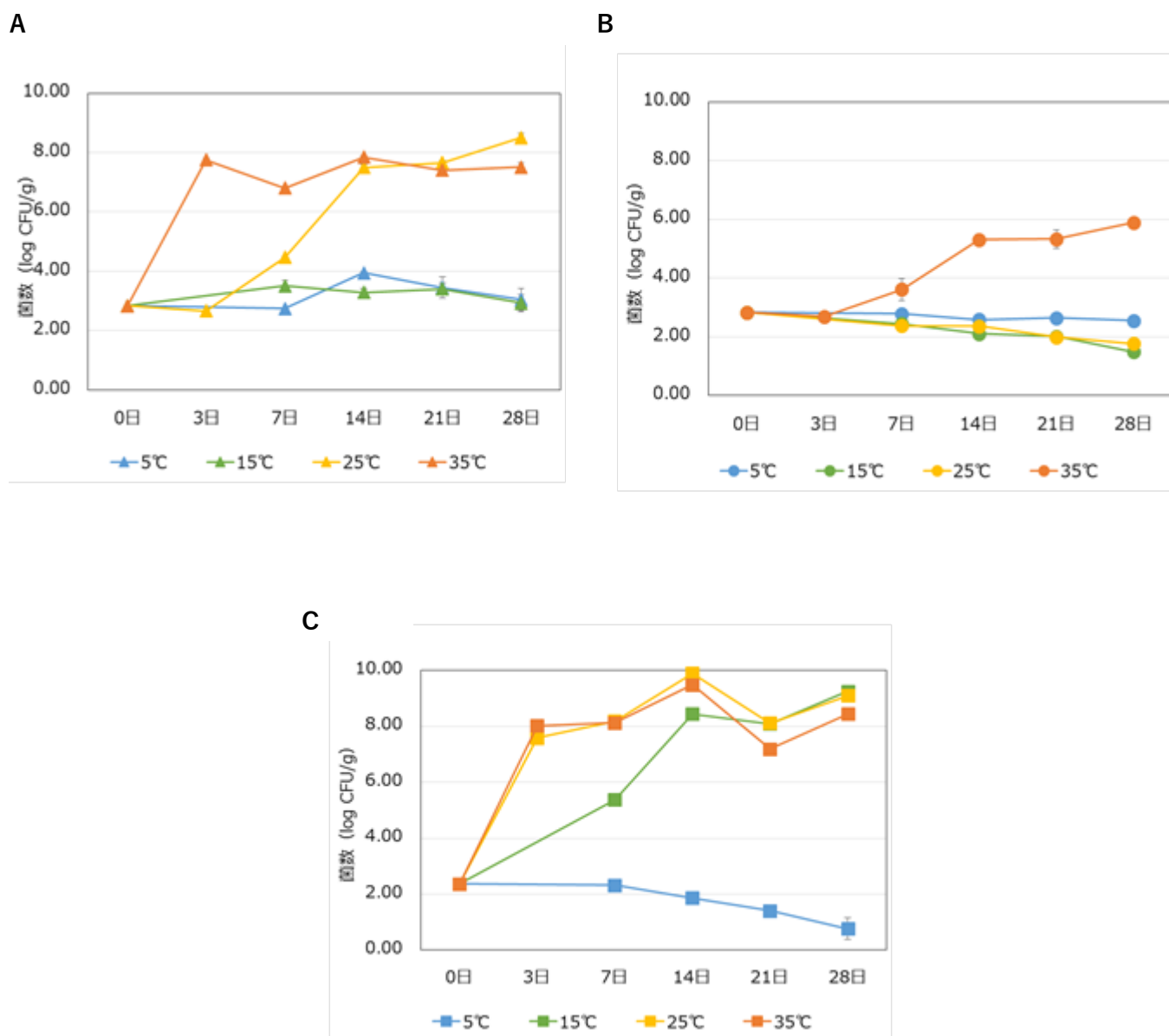


図 1. 加糖餡製品検体における *S. aureus* NBRC 12732 株の経時的生存・増殖挙動。セクション A, B, C はそれぞれ A 製品、B 製品、C 製品検体における菌数推移を示す。エラーバーは標準誤差を意味する。