

市販食品の細菌汚染状況

今江 佳奈美、中村智英子、達牧子(神戸女子短期大学)
寺本忠司 (神戸科学研究所)

〔目的〕食品の品質や安全性の指標は生菌数、大腸菌群、大腸菌とされ、食品衛生法に食品別の成分規格が記載されている。この基準にクリアした製品が製造工場から出荷されているが、成分規格の無い市販食品の細菌汚染状況を把握するため調査を行った。

コンビニおよびスーパーの食品ならびに一般店舗で賞味期限内の惣菜とカット野菜の生菌数、大腸菌群、大腸菌および黄色ブドウ球菌試験を実施し、衛生規範の指導基準*1に基づいて合否を判定した。さらに、カット野菜の大腸菌群および大腸菌検出率を日本調理科学会発表(2008年)のカット野菜と比較した。

〔材料および方法〕2000年～2016年に食物栄養学科の食品衛生学実験に用いた市販食品は惣菜74例、野菜14例、洋生菓子6例、和菓子19例、サンドイッチ32例、漬物3例および飯8例の計156例である。また、2017年に一般店舗で購入した惣菜50例およびカット野菜12例を試験に用いた。

細菌試験法は試料10gをストマッカー袋に入れ、希釈水90mlを加えてストマッカーで30秒間処理した。各10倍段階希釈液の1mlをそれぞれシャーレ、フィルムEC(大腸菌群数および大腸菌数測定用)およびフィルムSA(黄色ブドウ球菌数測定用)に接種した。シャーレに標準寒天培地15mlを加え、35℃で48時間培養後、発育集落を計測した。また、フィルム法は35℃で24時間培養後、大腸菌群は赤色のガス産生集落、大腸菌および黄色ブドウ球菌は青色集落を計測した。なお、学生の実験は生菌数測定のみ行った。

〔結果および考察〕学生実習における市販食品の生菌数の合格数は惣菜67例(90.5%)、野菜6例(42.9%)および洋生菓子5例(83.3%)であった。生菌数の指導基準を超える惣菜、野菜および洋生菓子の存在が明らかになった。

惣菜50例の生菌数は指導基準にすべて合格し、大腸菌および黄色ブドウ球菌は陰性であった。なお、指導基準にない大腸菌群の陽性数は20例(40%)であった。今後、大腸菌群陽性食品の製造、流通、販売店で汚染源の解明を調査する。

カット野菜12例の生菌数は指導基準に合格であり、指導基準にない大腸菌群、大腸菌および黄色ブドウ球菌は陰性であった。

*1 惣菜:生菌数10万/g以下

洋生菓子:生菌数10万/g以下、大腸菌群陰性、黄色ブドウ球菌陰性

野菜:生菌数100万/g以下

3M™ ペトリフィルム™ 培地 乳酸菌数測定用LABプレートを用い

た好気培養による食品変敗乳酸菌の検出法の検討

スリーエムジャパン株式会社 ヘルスケアカンパニー
技術本部 フードセーフティ製品技術グループ 須田 貴之

食品業界において、乳酸菌を原因とした食品変敗の予防を目的として、寒天培地および液体培地を用いた検査が広く行われている。乳酸菌は通性嫌気性の細菌であり、好気培養で測定する場合と嫌気培養で測定する場合があるが、一般的に好気培養は、嫌気培養と比較して夾雑菌が多く生育することが問題となり、嫌気培養は、嫌気状態にするための手間とコストが問題となることがある。

一般的な乳酸菌の検査方法としては、乳及び乳製品の成分規格等に関する省令に記載のある、BCP加プレートカウント寒天培地を用いて好気培養を行う方法と、ISO 15214:1998等に記載のある、MRS寒天培地を用いて嫌気培養を行う方法があるが、前者の方法では多く夾雑菌が存在する検体から乳酸菌のみを検出することは困難であり、後者の方法では嫌気培養のために嫌気ジャーや脱酸素剤を用意する必要がある。

この度3M社では、特別な器具を必要とせずに嫌気状態で培養が可能な乾式フィルム状培地（3M™ペトリフィルム™培地乳酸菌数測定用（LAB）プレート）を開発し、2016年秋に日本国内において発売を開始した。本製品は、栄養成分、選択剤、冷水可溶性ゲル、指示薬等を含む乾式フィルム状のできあがり培地であり、食品業界等における乳酸菌の測定に適するよう設計・検証されている。

今回は、食品業界において懸念される乳酸菌について概説し、製品の特徴を紹介するとともに、標準菌株を用いた添加回収試験により日本国内で一般的に用いられるBCP加プレートカウント寒天培地との試験結果の比較を行ったので紹介する。

標準菌株として、乳酸菌14株及び非乳酸菌9株を用いた。液体培地による増菌液を、リン酸緩衝生理食塩水にて $10^1 \sim 10^3$ cfu/mLに希釈した。LABプレートを用いた方法では、1 mLの菌液を接種し、30 °Cにて48時間好気培養し、出現したコロニーを測定した。BCP加プレートカウント寒天培地では、1 mLの菌液を混釈法にて接種し、30 °Cにて72時間好気培養し、出現したコロニーを測定した。

乳酸菌株の検出については、LABプレートを用いた方法とBCP加プレートカウント寒天培地を用いた方法は高い相関を示した ($R^2=0.96$)。非乳酸菌株の検出については、BCP加プレートカウント寒天培地では9株の全てがコロニーを形成し、7株については黄色域が確認されたが、LABプレートではいずれもコロニーを形成しなかった。

LABプレートは、手間のかかる嫌気培養を行う必要がなく、夾雑菌の生育を抑制できる。そのため、夾雑菌が存在する検体から乳酸菌を選択的に検出ことができ、食品変敗の原因となる乳酸菌の日常的な検査への使用に適用できる可能性が考えられた。

腸内細菌科菌群試験の導入に向けての検討

三栄源エフ・エフ・アイ株式会社

○柴田隆一、津田善彦

【目的】

腸内細菌科菌群 (*Enterobacteriaceae*) は、その分類学的な位置付けが明確であることから、近年、EUにおいて大腸菌群に代わる衛生指標菌として汎用されている。国内においても平成 23 年に生食用食肉の成分規格に腸内細菌科菌群が設定され、これらの試験法ではバイオレットレッド胆汁グルコース寒天 (以下 VRBG) 培地が指定されている。さらに、海外のグローバル企業においても衛生管理において腸内細菌科菌群を用いる傾向が見られている。

一方、大腸菌群は、日本および米国において広く用いられてはいるが、その試験法において、国内ではデソキシコレート寒天 (以下 DESO) 培地や BGLB 培地が採用され、米国ではバイオレットレッド胆汁乳糖寒天 (以下 VRB) 培地が指定されており、整合性の問題を含んでいる。

このような背景のもと、食品関連企業が、海外のメーカーやユーザーと円滑な取引を行う上で、国内外の微生物規格や試験法に適切に対処していくことが重要と考えられる。現在、当社においては衛生指標菌として大腸菌群を設定し、主に DESO 培地を用いた試験法を採用しているが、今後、腸内細菌科菌群での衛生管理の実施を検討していくため、大腸菌群 (DESO 培地、VRB 培地) と、腸内細菌科菌群 (VRBG 培地) の菌数測定を行い、各種培地における発育状況の比較を行ったので報告する。

【方法】

- ① 当社取扱サンプルを用い、DESO 培地、VRB 培地、VRBG 培地を用いて混釈培養し、 $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ で 18、24、36、48 時間後の菌数測定及び発育状況の比較を行った。
- ② 過去に分離した菌について、16SrDNA の塩基配列を基に同定を行った。また、各種培地における発育状況の比較を行った。使用した培地は、DESO 培地、VRB 培地、VRBG 培地、BGLB 培地、XM-G 培地である。

【結果および考察】

方法①では腸内細菌科菌群及び大腸菌群を検出し、DESO 培地より VRB 培地と VRBG 培地でより検出菌数が多い試料が認められた。コロニーの発育状況の確認では、VRB 培地と VRBG 培地は DESO 培地より色調が鮮やかで判別しやすく、培養時間もより早く確認した。

方法②での分離菌は、*Enterobacter cloacae*、*Klebsiella oxytoca*、*Pantoea calida*、*Shigella sonnei*、*Acinetobacter* spp.、*Pseudomonas* spp.、*Enterococcus faecium*、*Escherichia hermannii* と同定した。各菌株について、DESO 培地、VRB 培地、VRBG 培地、BGLB 培地、XM-G 培地における発育状況の違いを確認した。また、*Escherichia hermannii* は IMViC 試験にて大腸菌と同じ反応を示すが、酵素基質培地では判別が難しいことを確認した。

今回の検討では、米国や EU で使用されている VRB 培地と VRBG 培地の有用性が確認できた。今後の課題として、試料成分も菌の発育に影響を与えるため、当社取扱サンプルを用いた添加回収試験等の検討が必要である。今後も、腸内細菌科菌群での衛生管理の実施に向けて検討していく予定です。