

参考資料 2

平成 17 年度

食品・添加物等規格基準に
関する試験検査等について

冷凍パン生地およびその原料に関する試験

機 関 名

財団法人日本冷凍食品検査協会

研究責任者名（契約者）

理事長 近藤 和廣（印）

1. 目的

食品衛生法における冷凍食品の規格基準では、不衛生な取扱いや消化器系感染症起因菌による汚染を示唆する指標菌として、大腸菌群や大腸菌 (*E. coli*) を採用し、これら微生物が最終製品から検出されないことを求めている。しかしながら、近年の冷凍食品の多様化及び輸入冷凍食品の増加に伴い、現在の成分規格の中で用いられている分類（凍結直前加熱・凍結直前未加熱等）及び微生物規格を見直す必要があるのではないかと指摘がなされている。

本調査は、このような状況を踏まえて、現行の冷凍食品の成分規格の見直しに伴う食品健康影響評価を食品安全委員会に依頼するために必要な微生物学的データを収集し、知見を取りまとめることを目的とする。

2. 方法

1) 器具・試薬・培地

標準寒天培地、デソキシコレート寒天培地、BGLB 培地、EC 培地、EMB 寒天培地、乳糖ブイヨン培地、普通寒天培地、加モルトコロフォーム寒天培地、滅菌リン酸緩衝液シャーレ、牛乳ピペット、メスピペット、ねじ口瓶、三角フラスコ、外科ばさみ、薬匙、ストマッカー袋、試験管、ダーラム管、試験管立て、ステリストッパー（栓）マイクロピペット、チップ、精製水、バイダスアッセイキットスタフエンテロトキシンⅡ、PH試験紙

2) 機器

ボルテックスミキサー、ストマッカー、ふ卵器、コロニーカウンター、ダイリユーター、ディープフリーザー、恒温水槽、乾熱滅菌器、オートクレーブ
ミニバイダス、遠心分離機

3) 試料溶液の調製および試験方法

<生菌数、大腸菌群、*E. coli*>

試料 25g をストマッカー袋にはかり取り 225mL のリン酸緩衝液を加え、これを試料原液とした。食品・添加物等の規格基準、冷凍食品の成分規格により、生菌数、大腸菌群、*E. coli* の検査および、食品衛生検査指針により、*E. coli* (MPN 法)、大腸菌群 (BGLB MPN 法) の検査を行った。

<黄色ブドウ球菌エンテロトキシン>

試料 25g をストマッカー袋にはかり取り 25mL の抽出緩衝液 (バイダスアッセイキットスタフエンテロトキシンⅡの試薬原液 50mL を 1L に希釈する) を加え、均質化試料とした。粉体は等量の精製水を加え 1 時間放置し、同様な操作を行った。

次に均質化試料の遠心分離を行い、上澄み液を分取し、PH試験紙で 7.5 から 8 を確認した。

PH確認を行った検液 500 μ L を、バイダスアッセイキットスタフエンテロトキシン

II 中のストリップに分注し、ミニバイダスにより黄色ブドウ球菌エンテロトキシン測定を行った。

以上

冷凍パン生地及びその原料に関する基礎調査分析結果

工場名	検体名	製品名・商品名	番号	生菌数	大腸菌群 (デソキシコレート)	大腸菌群 (MPN/100g)	E.coli (MPN/100g)	E.coli(3本法) (冷凍食品規格)	エンテロキシン (ミニバイダス法)
T	製品	①	1	5.3 × 10 ³	陰性	2,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			2	8.6 × 10 ³	陰性	9,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			3	5.9 × 10 ³	陰性	9,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			4	4.3 × 10 ³	陽性	9,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			5	8.7 × 10 ³	陰性	24,000	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			6	5.4 × 10 ³	陰性	24,000	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			7	6.9 × 10 ³	陽性	4,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			8	5.0 × 10 ³	陽性	4,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			9	6.4 × 10 ³	陽性	920	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			10	5.8 × 10 ³	陽性	2,100	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
		②	1	8.9 × 10 ⁷	陽性	15,000	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			2	7.8 × 10 ⁷	陽性	2,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			3	3.9 × 10 ⁷	陽性	4,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			4	4.5 × 10 ⁷	陽性	2,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			5	4.7 × 10 ⁷	陽性	2,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			6	6.1 × 10 ⁷	陽性	2,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			7	7.5 × 10 ⁷	陽性	4,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			8	6.1 × 10 ⁷	陽性	9,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			9	5.8 × 10 ⁷	陽性	9,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			10	6.7 × 10 ⁷	陽性	4,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
	小麦粉	③	1	1.1 × 10 ⁴	陽性	920	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			2	1.4 × 10 ⁴	陽性	2,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			3	1.3 × 10 ⁴	陽性	920	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			4	1.2 × 10 ⁴	陽性	740	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			5	1.4 × 10 ⁴	陽性	2,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			6	1.2 × 10 ⁴	陽性	360	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			7	9.2 × 10 ³	陽性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			8	1.4 × 10 ⁴	陽性	920	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			9	1.6 × 10 ⁴	陽性	360	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			10	8.2 × 10 ³	陽性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
		④	1	8.4 × 10 ³	陰性	4,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			2	7.7 × 10 ³	陰性	2,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			3	1.4 × 10 ⁴	陰性	4,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			4	1.2 × 10 ⁴	陰性	2,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			5	1.3 × 10 ⁴	陰性	2,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			6	9.3 × 10 ³	陰性	4,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			7	9.9 × 10 ³	陽性	4,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			8	7.5 × 10 ³	陰性	24,000	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			9	9.6 × 10 ³	陰性	9,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			10	1.2 × 10 ⁴	陰性	2,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
	手粉	⑤	1	8.0 × 10 ³	陰性	24,000	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			2	<3.0 × 10 ³	陰性	920	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			3	4.0 × 10 ³	陰性	2,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			4	<3.0 × 10 ³	陰性	2,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			5	<3.0 × 10 ³	陰性	9,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			6	5.3 × 10 ³	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			7	<3.0 × 10 ³	陰性	920	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			8	6.9 × 10 ³	陽性	2,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			9	3.2 × 10 ³	陰性	4,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			10	3.7 × 10 ³	陰性	24,000	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
イースト	⑥	1	2.9 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
		2	2.9 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
		3	2.0 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
		4	3.8 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
		5	1.7 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
		6	6.3 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
		7	3.2 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
		8	3.8 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
		9	4.2 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
		10	5.3 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
	⑦	1	4.7 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
		2	2.3 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
		3	3.4 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
		4	8.7 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
		5	9.6 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
		6	3.7 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
		7	2.6 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
		8	3.9 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
		9	7.1 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
		10	6.6 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
H	製品	⑧	1	5.3 × 10 ⁷	陰性	4,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			2	5.4 × 10 ⁷	陽性	360	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			3	1.8 × 10 ⁷	陽性	920	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			4	6.6 × 10 ⁷	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			5	5.5 × 10 ⁷	陽性	920	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			6	4.7 × 10 ⁷	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			7	3.8 × 10 ⁷	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)
			8	4.0 × 10 ⁷	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)

冷凍パン生地及びその原料に関する基礎調査分析結果

工場名	検体名	製品名・商品名	番号	生菌数	大腸菌群 (デシキコレート)	大腸菌群 (MPN/100g)	E.coli (MPN/100g)	E.coli(3本法) (冷凍食品規格)	エンテロトキシン (ミニバイダス法)	
	小麦粉	⑨	9	2.1 × 10 ⁷	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
			10	1.2 × 10 ⁸	陽性	360	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
			1	<3.0 × 10 ³	陽性	2,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
			2	<3.0 × 10 ³	陰性	2,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
			3	<3.0 × 10 ³	陽性	360	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
			4	<3.0 × 10 ³	陰性	920	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
			5	<3.0 × 10 ³	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
			6	<3.0 × 10 ³	陰性	920	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
			7	<3.0 × 10 ³	陽性	920	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
			8	<3.0 × 10 ³	陰性	920	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
	9	<3.0 × 10 ³	陰性	2,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)			
	10	<3.0 × 10 ³	陰性	360	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)			
	ミックス粉	⑩	1	4.5 × 10 ³	陰性	2,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
			2	<3.0 × 10 ³	陰性	2,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
			3	<3.0 × 10 ³	陰性	2,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
			4	<3.0 × 10 ³	陽性	2,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
			5	6.5 × 10 ³	陽性	920	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
			6	3.3 × 10 ³	陽性	920	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
			7	<3.0 × 10 ³	陰性	2,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
			8	4.8 × 10 ³	陰性	2,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
			9	<3.0 × 10 ³	陰性	920	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
			10	<3.0 × 10 ³	陽性	2,300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
	イースト	⑪	1	7.5 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
			2	6.3 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
			3	7.3 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
			4	7.5 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
			5	7.6 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
			6	6.9 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
			7	6.6 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
			8	5.6 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
			9	6.2 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
			10	8.3 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
	F	製品	⑫	1	9.3 × 10 ⁷	陽性	24,000	920	陰性	検出せず(<1ng/g)
				2	1.8 × 10 ⁸	陽性	9,300	4,300	陽性	検出せず(<1ng/g)
				3	1.3 × 10 ⁸	陽性	46,000	9,300	陽性	検出せず(<1ng/g)
				4	8.2 × 10 ⁷	陽性	46,000	4,300	陽性	検出せず(<1ng/g)
				5	8.2 × 10 ⁷	陽性	110,000	920	陰性	検出せず(<1ng/g)
				6	1.1 × 10 ⁸	陽性	110,000	24,000	陽性	検出せず(<1ng/g)
				7	7.5 × 10 ⁷	陽性	9,300	15,000	陽性	検出せず(<1ng/g)
				8	1.1 × 10 ⁸	陽性	24,000	9,300	陽性	検出せず(<1ng/g)
9				1.1 × 10 ⁸	陽性	24,000	4,300	陽性	検出せず(<1ng/g)	
10				6.4 × 10 ⁷	陽性	24,000	1,500	陽性	検出せず(<1ng/g)	
小麦粉		⑬	1	2.9 × 10 ⁶	陽性	360	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)	
			2	<3.0 × 10 ³	陽性	920	<300	陰性	—	
			3	<3.0 × 10 ³	陰性	360	<300	陰性	—	
			4	1.2 × 10 ⁶	陰性	2,300	<300	陰性	—	
			5	2.6 × 10 ⁶	陰性	2,300	<300	陰性	—	
			6	3.0 × 10 ⁷	陰性	920	<300	陰性	—	
			7	<3.0 × 10 ³	陽性	920	<300	陰性	—	
			8	<3.0 × 10 ³	陰性	<300	<300	陰性	—	
			9	5.1 × 10 ³	陽性	2,300	<300	陰性	—	
			10	<3.0 × 10 ³	陰性	2,300	<300	陰性	—	
イースト	⑭	1	2.8 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)		
		2	3.2 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)		
		3	2.5 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)		
		4	1.9 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)		
		5	1.5 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)		
		6	2.0 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)		
		7	1.1 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)		
		8	9.8 × 10 ⁸	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)		
		9	2.5 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)		
		10	1.1 × 10 ⁹	陰性	<300	<300	陰性	検出せず(<1ng/g)		
手粉	⑮	1	<3.0 × 10 ³	陽性	920	<300	陰性	—		
		2	<3.0 × 10 ³	陰性	<300	<300	陰性	—		
		3	<3.0 × 10 ³	陰性	920	<300	陰性	—		
		4	<3.0 × 10 ³	陽性	360	<300	陰性	—		
		5	<3.0 × 10 ³	陰性	360	<300	陰性	—		
		6	<3.0 × 10 ³	陽性	360	<300	陰性	—		
		7	<3.0 × 10 ³	陰性	360	<300	陰性	—		
		8	<3.0 × 10 ³	陽性	2,300	<300	陰性	—		
		9	<3.0 × 10 ³	陰性	360	<300	陰性	—		
		10	<3.0 × 10 ³	陰性	<300	<300	陰性	—		