

氏 名 : 加藤 和子
学位の種類 : 博士(学術)
学位記番号 : 博甲第 19 号
学位授与の日付 : 令和 3 年 3 月 18 日
学位授与の要件 : 東京家政大学学位規程第 3 条第 2 号該当
人間生活学総合研究科
学位論文題目 : 炊き込みご飯および混ぜご飯の生物学的危害要因と
安全性確保に関する研究
論文審査委員 : (主査) 教 授 峯木 眞知子
教 授 藤森 文啓
客員教授 木元 幸一
客員教授 宮尾 茂雄
講師(兼任) 森田 幸雄

論文内容の要旨

従来から炊き込みご飯や混ぜご飯は白飯より腐敗しやすいといわれ、弁当には不向きであると言われている。厚生労働省の食中毒事故発生状況の統計の年次別原因食品別食中毒発生状況においても、飲食店や家庭での米飯類による食中毒事件が報告され、チャーハンや焼き飯等の米飯類に多く、原因はセレウス菌によるものと考えられる。セレウス菌による食中毒に関する先行研究では、食中毒が発生した食品の種類や菌量についてであり、食材ごと、調理工程ごとの成績は少ない。本研究では、その食中毒における現状と研究に至った背景を説明し、炊き込みご飯および混ぜご飯の生物学的危害要因と安全性確保するために、炊き込みご飯・混ぜご飯に用いる食材および下処理工程による細菌汚染状況を検討した。また、ごまはセレウス菌のみならず、腸内細菌科に属する細菌を保有しているものが市販・流通していることが判明したことから、ごまに付着している細菌の菌叢解析を実施した。

第 1 章では、白米は *Bacillus cereus* の汚染は低いという先行研究を踏まえ、炊き込み・混ぜご飯のセレウス菌食中毒の原因は、調理時に加える食材からの *B. cereus* の汚染が食品衛生上重要と考え、炊き込みご飯、混ぜご飯の食材として多く使用されるにんじん、ごぼうの下処理工程からの汚染状況を検討した。その結果、にんじんは皮をむく、ごぼうは皮をこそげてからさらに洗うという下処理工程が、細菌汚染の軽減策であることが判明した。しかし、加熱後のにんじんからはバチルス属菌、未加熱のごぼうからエンテロトキシン産生 *B. cereus* が検出されたことから、加熱調理してもバチルス属菌が生存する可能性があり、具材は生のまま研いだ米に混ぜて炊くよりも、一度加熱してから米に混ぜて炊飯し、二度加熱することで、より生物学的危害を軽減できると考えられた。

第 2 章では、市販赤飯の細菌汚染状況について検討した。その結果、購入した市販赤飯からセレウス菌は検出しなかった。このことから、市販赤飯はセレウス菌食中毒の原因食品の危険性は少ないと考えた。しかし、18°C(室温)、24 時間保存した赤飯では、一般生菌数およびバチルス属菌の検出率が増加した。赤飯の食材である、あずきとごまからエンテロトキシン産生、セレウリド遺伝子非保有の *B. cereus* が検出された。これらの食材は赤飯へのセレウス菌汚染源である可能性が示唆された。ごま

の調理は3粒はじける程度に煎るとされている。この調理加熱温度は160℃であることを確認した。この条件で煎ると一般生菌は生存するが、バチルス属菌は検出されなかった。このことから、セレウス菌食中毒を防止するためのごまを煎るという調理条件は160℃の加熱であることが判明した。

第3章では、赤飯の主材料である市販もち米の細菌汚染状況の検討を行った。その結果、多くの一般生菌と腸内細菌科菌群が検出され、MALDI-TOF MS テストにより、*Pantoea dispersa*、*P. ananatis* および *Kosakonia cowanii* と同定された。これらの菌は日和見感染症の原因菌であることを消費者に周知することも、食品衛生上重要であると思われた。また、分離 *B. cereus* は、セレウリド合成酵素遺伝子を保有せず、エンテロトキシン非産生であった。このことから、もち米は、赤飯のセレウス菌による食中毒の低リスク要因であることが判明した。

第4章では、市販ごまおよびチャーハンに多用される食材のたけのこの水煮ならびにねぎの細菌汚染状況を検討した。その結果、ごまからバチルス属菌が検出し、分離 *B. cereus* はセレウリド合成酵素遺伝子を保有せず、エンテロトキシンを非産生であった。分離された腸内細菌科菌群は *P. dispersa*、*P. septica*、*P. agglomerans* と同定された。たけのこの水煮は、一般生菌数のみの検出で、通常の調理では調味・加熱して食するため、食品衛生学的な危害はないと考える。ねぎからは、一般生菌と腸内細菌科菌群の *P. ananatis*、*P. agglomerans* が検出された。バチルス属菌は検出されなかったことから、洗浄し、調理で使用する場合は中央部分の白色部を用いることで、セレウス菌による食中毒の危害は低くなる。分離された腸内細菌科菌群は、市販生化学的性状キットでは同定できなかったが、MALDI-TOF MS テストでは同定が可能であった。よって、MALDI-TOF MS テストは食品試料からの分離菌の同定に有効である。

第5章では、第4章で一般生菌および腸内細菌科菌群が検出されたごまのグラム陰性菌の菌叢解析を行った。その結果、ごま試料中に分布する菌の属とそれらの比率は異なっていた。*Pantoea* 属と *Pseudomonas* 属が一般的であり、その他、*Serratia* 属、*Xanthomonas* 属、*Rosenbergiella* 属のいずれかが含まれていた。メタゲノム解析を用いた菌叢解析は食品試料中の細菌叢を調査するための有効な手段である。

以上、本研究による新しい知見は、日本人が好む炊き込みご飯や混ぜご飯の生物学的危害要因を明らかにしたこと、および、安全性確保の方法を明らかにしたことである。これらの知見は、家庭での扱ただけでなく、食品企業、中食産業などで利用すべき情報である。また、検討した食材はアジアの伝統食材でもあり、日本だけでなく、海外でも有用な情報であると考えられる。今後の課題としては、セレウス菌食中毒のみならず、台所に保管される食材に分布する細菌の危害要因について、さらに検体数を増やし、保存中の変化についても検討する。そのことで、調理方法や保存方法について食中毒等の防止のために消費者、食品企業等、また、海外の国々にも提案ができるように努力を重ねたいと考えている。

論文審査の結果の要旨

古くから、炊き込みご飯や混ぜご飯が白飯より腐敗が早いといわれている。本論文は、経験での作業が多い調理工程について、微生物学的な技術を用いて科学的にリスク判定しているところに新規性がある。このような調理工程における細菌数を用いての証明は家庭教育や調理科学分野において、有益である。また、得られた知見は、消費者だけでなく、中食産業に対する有益な新規情報を含んでいる。令和2年6月から食品衛生法で定められている全業種に HACCP 導入の義務化が行われている。一般衛生管理や危害要因分析においても、科学的データを根拠とした対策が求められており、本論文の科学的データは、多くの科学的情報を HACCP システム構築の際に利用できると考える。

序論では、統計資料の検索等により、我が国では多くの炊き込みご飯・混ぜご飯を昔から食されていること、及びそれらの調理品からセレウス菌の食中毒が多いこと、食材では、にんじん、ごぼう、たけのこの水煮、ねぎが使用される頻度が高いこと、調理済みとしては赤飯による食中毒も存在すること等、これから解明する研究の目的を導き出している。

第1章では、にんじんとごぼうの調理の下処理法では、「にんじんは皮をむく」、「ごぼうは、洗う-皮こそげ落とす-洗う」が、セレウス菌を主とした食中毒リスクの軽減に有効であることを、細菌数を用いて証明している。調理工程の衛生指標では、細菌を用いること等の科学的データが乏しいことから、このような日常で行われる調理工程について細菌数を用いて証明したことは家政学上意義があると思われる。近年、テレビなどで、洗浄せずに皮のままカットして使用されているが、本研究の知見では、生食の場合には進められない。このように、調理教育及び消費者教育にこれらの情報を発信していくことができる。

第2章では、市販赤飯及び赤飯の材料であるあずき、ささげ、そして、ごまについての細菌学的手法を用いたリスク分析を実施し、食材として使用する、あずき、ささげ、ごまがセレウス菌に汚染されているものが存在することを見出し、赤飯の製造時には、これらの食材からの汚染が考えられること、そして、ごまは一般生菌数を含め、高度な細菌汚染が認められるものがあることから、赤飯の上にかけて放置することなく、喫食直前にふりかけることでリスクを軽減できること、すべてのごまは加熱する必要があること等を提唱している。これらの知見は消費者への有意義な情報である。なお、ごまについては第4章と第5章で再度詳細に検討している。

第3章では、赤飯の主材料である市販もち米の細菌汚染状況を従来の方法のみならず、近年開発され実用化された MALDI-TOF MS を用いた分離菌種の同定を実施している。もち米はセレウス菌汚染が少ないこと、日和見感染症起因菌である *Pantoea* 属、*Kosakonia* 属が分離できることを見出している。*Pantoea* 属、*Kosakonia* 属は市販生化学的性状では同定できないことから、MALDI-TOF MS を用いたことによって得られた新知見であると考えられる。

第4章では、第2章でハイリスクな食材と判定された市販ごま、そして、炊き込みご飯・混ぜご飯の食材として多用されるたけのこの水煮、ねぎについて、細菌汚染状況調査を実施し、分離菌種については MALDI-TOF MS を用いて同定している。ごまとねぎについては多くの一般生菌と日和見感染症起因菌である *Pantoea* 属菌が多数分離されるという新知見を見出している。また、たけのこの水煮は、一般生菌は分離されるものの、腸内細菌科菌群やセレウス菌は分離されないことも新知見である。

第5章では、供試検体のうち、最も細菌が分離されることが多いごまについて、次世代シーケンサーを用いた菌叢解析を実施・解明している。市販ごまの菌叢解明は初めての報告であると思われる。

以上、消費者および食品企業に有用な複数の科学的な知見が散見され、炊き込みご飯および混ぜご飯の調理時に、食品衛生上気を付けなければならないことを見出している。

なお、本論文で問題提起をしているセレウス菌のみにかかわらない危険要因についてはさらなる菌数解析を行い、解決を図る必要がある。また、食材は日本国内固有だけでなく、東南アジアなど世界的食材であるので、広く世界的に情報を発信できるように今後の研究の発展を期待するものである。

以上、本論文は、東京家政大学大学院博士課程人間生活学専攻の学術研究に寄与し、博士論文（学術博士）として相応しい内容であると判定し、合格とする。