

平成29年5月24日
内閣府食品安全委員会
微生物・ウイルス専門調査会 提出資料

資料3

無菌充填豆腐中の微生物に関する 試験検査

国立医薬品食品衛生研究所
食品衛生管理部
朝倉 宏

豆腐の種類(1)

・木綿豆腐

純木綿または普通豆腐と呼ばれていたもので、日本古来の豆腐を指す。原料に対し、約10倍量の水を加え、豆乳濃度6~8%、塩化マグネシウム(にがり)の凝固剤、硫酸カリウム(すまし粉)等を使用して凝固熟成後、荒し(崩し)と湯取りを行い成形、水切り、カット、水晒し、冷却したもので、製造設備が十分整備されていなかった時代には理想的な加工方法とされた。現在は、凝固後の湯取りをせず、成型、水切り、カット、水晒し、冷却したものが主体となっている。

・絹ごし豆腐

グルコノデルタラクトンの使用と同時に普及した豆腐で硫酸カルシウムを併用し製造されていた。豆乳濃度10%以上の豆乳と凝固剤を同時に容器内で短時間に凝固させ、熟成後、カット、水晒し、包装したもの。

豆腐の種類(2)

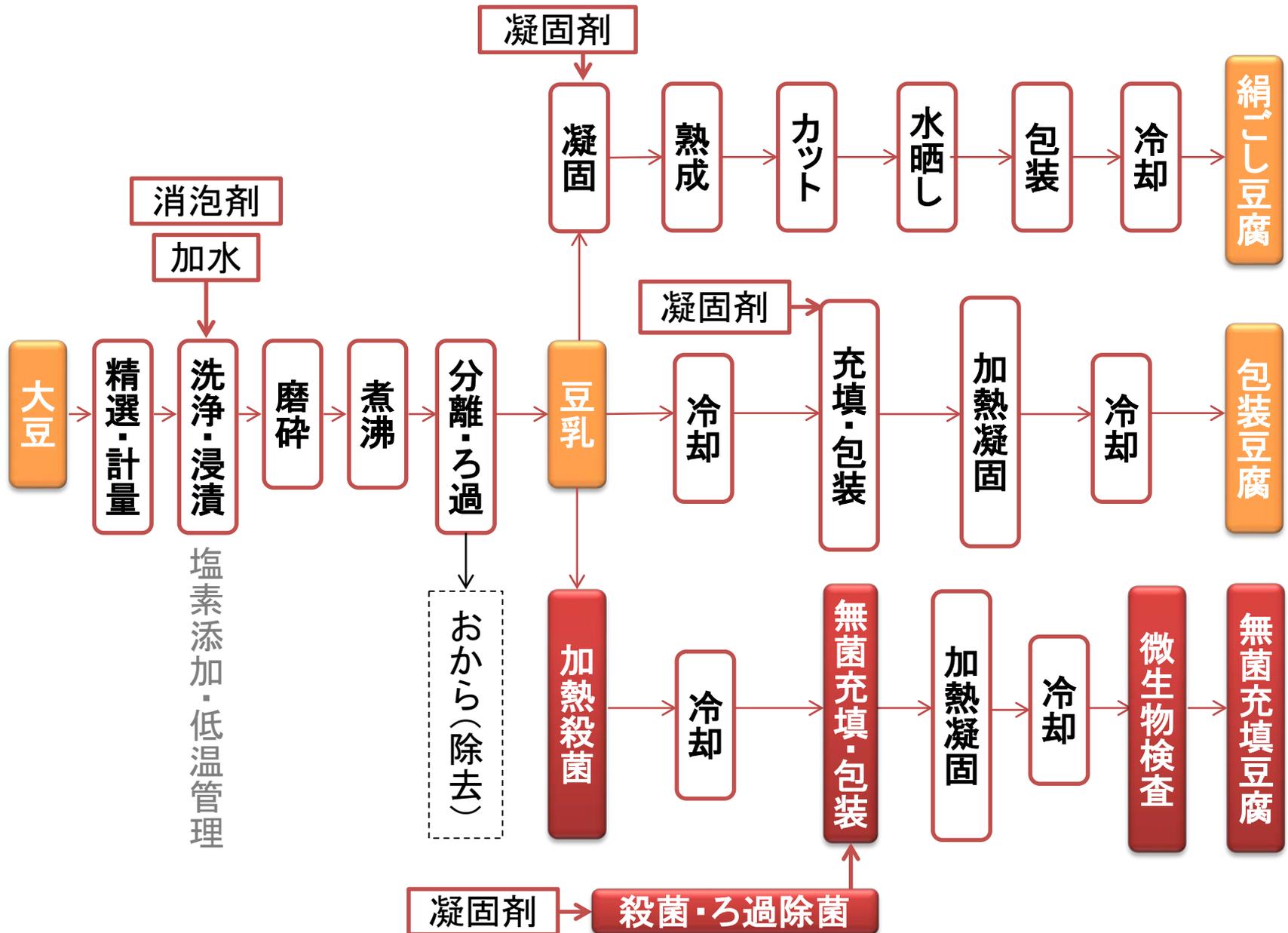
- 包装豆腐

豆乳に凝固剤を添加して、容器包装に充填した後加熱凝固させたもの(殺菌方法は90°C・40分間加熱する方法又はこれと同等以上の効力を有する方法)。

- 無菌充填豆腐

120°C・4分と同等以上の加熱殺菌条件にて製造した豆乳を冷却し、殺菌又はろ過除菌した凝固剤を無菌充填装置を用いて充填した後、凝固させることで無菌性を担保したものの。

豆腐の製造工程概要



豆腐製品の細菌検出状況

絹ごし豆腐製品(8製品・24検体)

- 一般細菌数は、平均 2.5×10^3 CFU/g (7製品・15検体で陽性)
- 大腸菌群は、1検体から検出 (1.0×10^3 CFU/g)

包装豆腐製品(8製品・24検体)

- 一般細菌数は、平均 3.4×10^{-1} CFU/g (5製品・13検体で陽性)
- 大腸菌群は検出されず
- バチルス属菌が5製品13検体より検出(特に*B. licheniformis*)

無菌充填豆腐(2製品・240検体)

- 一般細菌数、大腸菌群、好気性芽胞形成菌、嫌気性芽胞形成菌(全て陰性)
- 発育し得る微生物(恒温試験・細菌試験) (全て陰性)

無菌充填豆腐の製造工程(例)

<仕込み工程>

大豆の選別

前処理 (粗選・研磨・石抜等)

洗殻・水浸漬

塩素添加・低温管理

摩砕・蒸煮・分離脱水

<豆乳製造・殺菌工程>

ヒートショック

加熱殺菌

120℃・4分間と同等以上

脱気冷却

凝固剤: 受入れ検査+ろ過性能確認+従業員指導及び健康管理等によりハザードを除外

<無菌充填工程>

凝固剤添加

凝固剤の
殺菌・ろ過除菌

圧力による性能確認

包材殺菌

(過酸化水素水)

HEPA

無菌充填・シール・容器成型

アルミ層を含む合成樹脂加工紙

<加熱凝固工程>

加熱凝固

冷却

<貯蔵・出荷工程>

金属探知機

外包装

貯蔵・出荷

発育し得る微生物が陰性

無菌充填豆腐に必要な条件

<仕込工程>

- 原料用大豆は、品質が良好できょう雑物を含まないものでなければならない。
- 原料用大豆は、十分に水洗しなければならない。

<豆乳製造・殺菌工程>

- 原材料等に由来して当該食品中に存在し、かつ、発育し得る微生物を死滅させ、又は除去するのに十分な効力を有する、次の全てを満たす方法で殺菌又は除菌を行うこと。
 - ・豆乳にあっては、120℃で4分間と同等以上で殺菌すること
 - ・凝固剤にあっては、衛生度の高い凝固剤を用いた上で、殺菌又は適切なフィルターを用い、かつ、製造時にフィルター性能を恒常的に確認する方法により除菌すること又はこれと同等以上の効力を有する方法で行うこと。

<無菌充填工程>

- 無菌充填が可能な機器を用いて、あらかじめ殺菌した適切な容器包装を用いて、無菌的に充填されていること

<貯蔵・出荷工程>

- 最終製品に対する、容器包装詰加圧加熱殺菌食品の成分規格に規定する試験の結果、発育し得る微生物が陰性であること

<工程全体>

- ・豆腐を製造する場合に使用する器具は、十分に洗浄し、かつ、殺菌したもの。
- ・豆腐を製造する場合に使用する水は、食品製造用水でなければならない。

現行の製造基準も重要な事項と考えられる。(黄色ブドウ球菌等の汚染リスクの除外に有効)

無菌充填豆腐の製造工程で想定される 微生物危害要因

- 仕込み工程（原材料及びその取扱い時）
耐熱性芽胞形成菌（ボツリヌス菌等）の混入
黄色ブドウ球菌等の混入
- 豆乳製造、加熱凝固、充填、貯蔵・出荷工程
耐熱性芽胞菌（ボツリヌス菌等）の生残
ろ過不備等による微生物汚染

無菌充填豆腐の製造工程を通じた細菌汚染動態

衛生指標菌数 (平均値・CFU/g)						
施設	検体	検体数	一般細菌	大腸菌群	好気性芽胞形成菌	嫌気性芽胞形成菌
A	原料大豆	3	7.9E+03	ND	3.5E+03	ND
	浸漬大豆	3	4.3E+06	ND	3.4E+05	ND
	加熱殺菌後凝固剤添加前の豆乳	3	ND	ND	ND	ND
	最終製品	63	ND	ND	ND	ND
B	原料大豆	4	8.2E+03	3.8E+03	9.1E+03	ND
	浸漬大豆	4	7.3E+04	2.5E+04	4.9E+04	ND
	加熱殺菌前凝固剤添加前の豆乳	4	1.25E-01	ND	1.25E-01	ND
	加熱殺菌後凝固剤添加前の豆乳	4	ND	ND	ND	ND
	最終製品	64	ND	ND	ND	ND

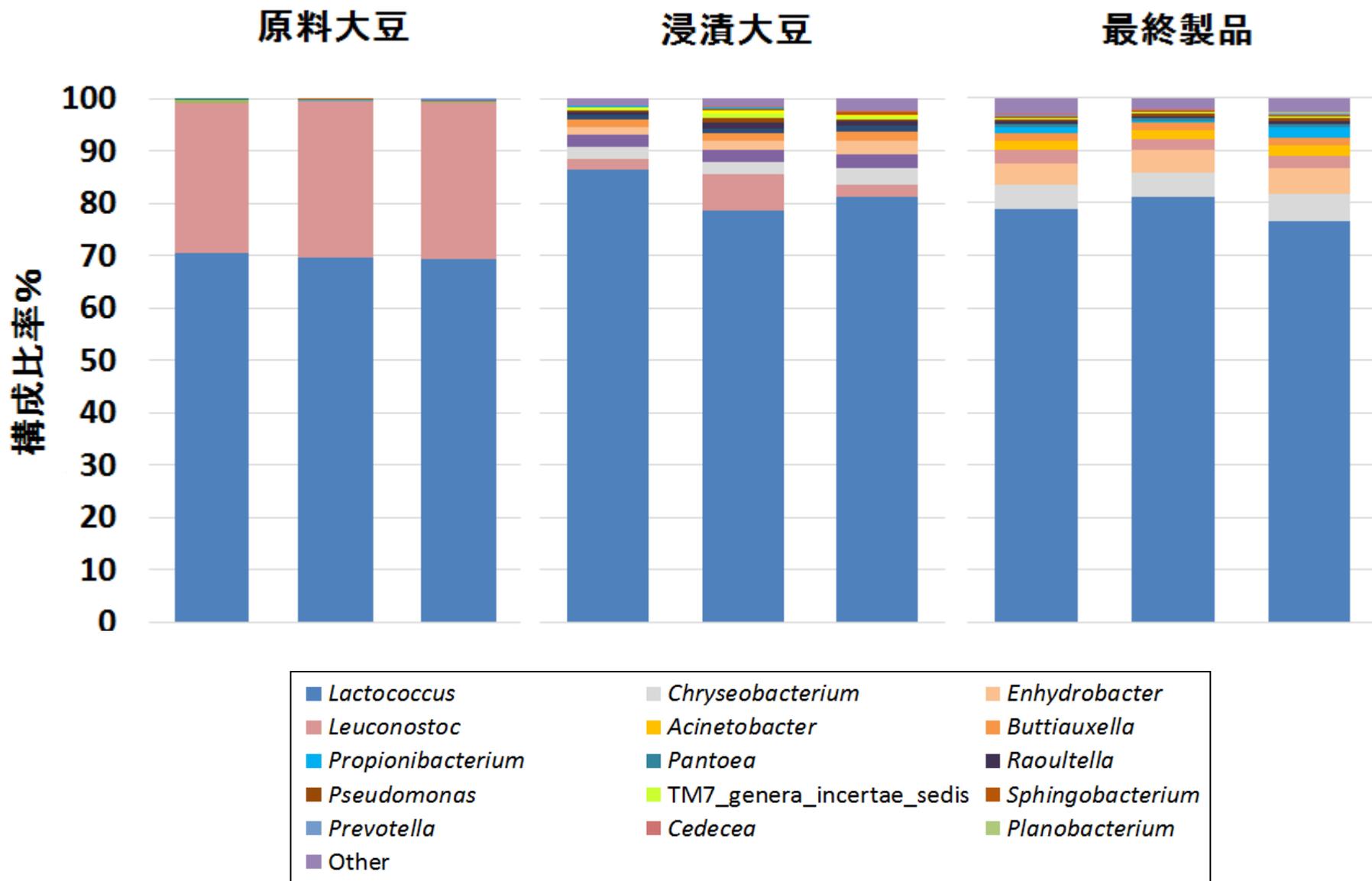
(ND, 検出されず)

無菌充填豆腐の製造環境における細菌検出状況

施設	検体	検体数	衛生指標菌数 (平均値・CFU/g)			
			一般細菌	大腸菌群	好気性芽胞形成菌	嫌気性芽胞形成菌
A	大豆秤量槽内壁	4	9.8E+01	ND	ND	ND
	大豆浸漬槽内壁	4	3.9E+05	4.0E+01	3.8E+05	1.5E+03
	床(豆乳製造殺菌)	2	1.0E+05	ND	1.8E+05	ND
	床(充填)	2	1.2E+02	ND	6.0E+02	ND
B	大豆秤量槽内壁	4	7.0E+02	ND	2.0E+02	2.5E+00
	大豆浸漬槽内壁	4	2.7E+07	5.0E+05	9.4E+06	2.9E+04
	床(豆乳製造・殺菌)	2	1.1E+04	2.5E+01	5.2E+03	ND
	床(充填)	4	8.8E+03	5.0E+01	1.8E+03	ND

(ND, 検出されず)

無菌充填豆腐の製造工程(A社)における構成菌叢動態



Staphylococcus属菌の検出状況

単位(%)

区分	工程	Staphylococcus	Escherichia/Shigella
環境	大豆秤量槽内部	2.4028	0.5222
		3.7045	0.0219
		1.0865	0.0873
	大豆浸漬槽内部	0.0000	0.0021
		0.0064	0.0000
		0.0000	0.0000
製品	原料大豆	0.0000	0.0000
		0.0000	0.0000
		0.0000	0.0000
	浸漬大豆	0.0000	0.0000
		0.0000	0.0044
		0.0000	0.0052
	加熱凝固前	0.0000	0.0000
		0.0000	0.0000
		0.0000	0.0000
	最終製品	0.0000	0.0000
		0.0000	0.0000
		0.0000	0.0000

原材料取扱い時の汚染は想定されるが、その後の洗浄等で十分に低減可能

容器包装詰加圧加熱殺菌食品の微生物規格基準

～危害要因、保存流通形態等の共通性を踏まえて～

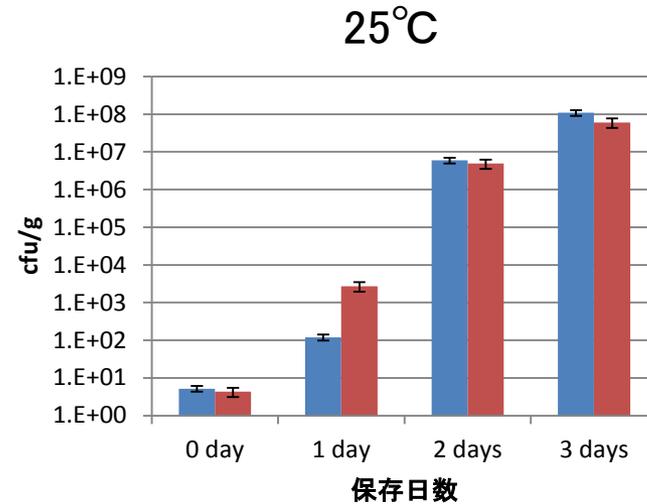
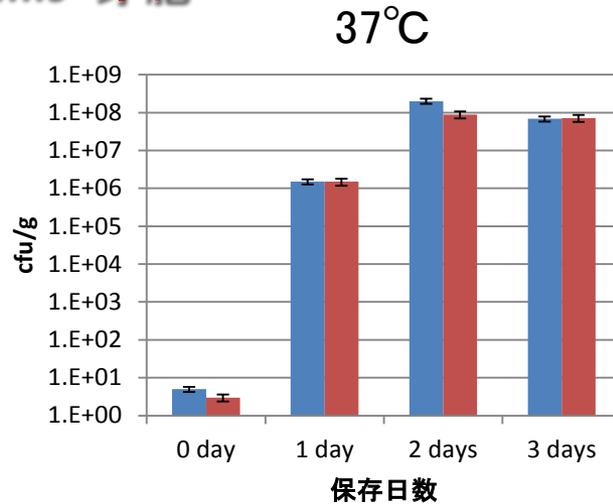
- 加熱殺菌基準：ボツリヌス菌を5D減少させることのできる工程管理基準（例：120℃・4分間）
- 成分規格：発育し得る微生物が検出されないこと

試験項目	操作概要	確認事項	対応
恒温試験	35℃で14日間保持	容器包装の膨張、内容物の漏えいの有無を確認	陰性の場合、細菌試験を実施
細菌試験	10倍乳剤をチオグリコール酸塩培養基にて、35℃で48時間培養	培養基の肉眼観察により、細菌増殖の有無を確認	培養基の何れかに細菌の増殖を認めたとのを陽性とする

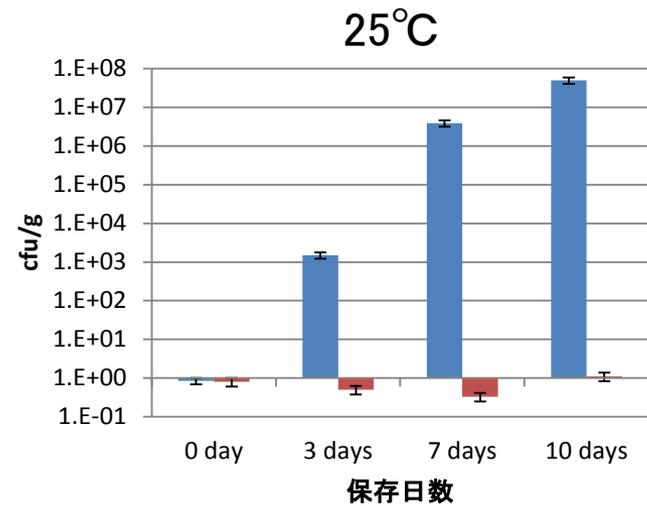
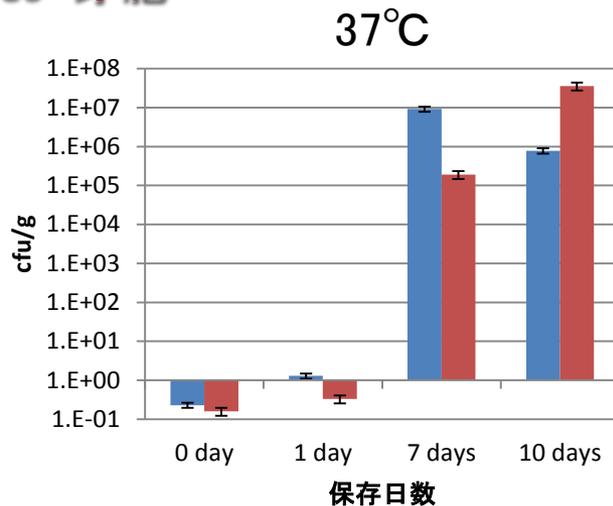
- 製造施設では、一般細菌を対象とした自主検査を実施
- 各製品につき、計120検体を供試
 - 一般細菌は検出されず（混釈法、60検体）
 - 上記無菌試験において、発育し得る微生物は陰性（60検体）
（好気性・嫌気性細菌の両者を含む）

添加回収試験による無菌充填豆腐中での芽胞の増殖挙動

B. licheniformis 芽胞



C. sporogenes 芽胞



製品によらず、工程管理の不備により当該食品中で増殖する恐れがありうる

豆乳中での耐熱性試験等より

無菌充填豆腐の殺菌工程は、容器包装詰加圧加熱殺菌食品と同等のボツリヌス菌制御効果を有することが示された。

無菌充填豆腐の長期保存試験

- 2製品 x 60検体 x 2ロット
 - ※賞味期限の各1.1~1.2倍の期間、25°C下で保存
 - ⇒ 一般細菌の検出試験(混釈法による)
 - ⇒ **容器包装詰加圧加熱殺菌食品の成分規格**
- 上記2法において、**陽性検体は認められず**
- 保存後の理化学性状にも顕変は認められず
(pHおよび酸化還元電位)

まとめ

- 今般、厚生労働省から諮問した豆腐の規格基準の改正に記載のある、「無菌充填豆腐に必要な条件」の遵守により製造される豆腐について、**微生物学的安全性は確保されることが示された。**
- 又、食品取扱設備等の衛生管理として、各施設で実施する一般衛生管理の適切な実施（管理運営基準の遵守）により、**十分な衛生管理が必要不可欠**である。
- なお、最終製品において、微生物的危害を適切に除去されていることの検証として、**成分規格を設定することが有効**であると考えられる。