

## 【資料】

## カレーの調理過程および保存環境における細菌汚染状況

稲津 早紀子\*, 福本 麻愉, 松永 藤彦

本研究ではカレー調理を原材料から保存に至るまで工程ごとに区分して細菌検査を行い、汚染状況を可視化した。カレーの原材料であるじゃがいも、にんじん、たまねぎ、鶏もも肉、水、カレールウは細菌による汚染を受けており、汚染度は原材料ごとに異なっていた。中でもじゃがいもの汚染度は高く、購入時の一般生菌数は6.0 Log cfu/gだった。じゃがいも、にんじん、たまねぎに付着する菌数は下処理工程および炒め工程によって減少し、鶏もも肉も炒め工程によって菌数が減った。煮込み工程では、水を加えて沸騰後15分間煮込むと一般生菌数は検出限界 ( $1.0 \times 10^1$  cfu/g) 未満となったが、カレールウを割入れた直後の調理液からは2.5 Log cfu/g程度検出され、完成したカレーからも同程度検出された。完成したカレーに生残した細菌は、35℃で24時間保存すると8.3 Log cfu/gまで増殖するが、10℃で保存すると増殖が抑制された。菌株同定の結果、カレールウおよび35℃で24時間保存したカレー調理液からは高い割合で*Bacillus*属の細菌が検出された。

キーワード：カレー、調理工程、細菌検査、耐熱性菌、*Bacillus*属

## はじめに

安全・安心な食品を調理・製造するために微生物制御は欠かせない。原材料となる農作物、畜産物、水産物などは、自然環境に由来する微生物の汚染をすでに受けており、調理・製造、保存、消費に至る過程においても様々な微生物の汚染を受ける。ときにはこのような微生物汚染によって食品の変敗・腐敗や食中毒事故が発生することもある<sup>1, 2)</sup>。微生物を制御するためには、原材料から消費に至るまで調理・製造工程全般にわたって微生物による汚染の状況を把握し、評価する必要がある。

カレーは日本の国民食の1つであり、単純な調理であることから家庭料理として馴染み深い<sup>3, 4, 5)</sup>。一方でカレーを原因食品とした食中毒が家庭や学校、飲食店などで散発している<sup>6)</sup>。大量調理の際の注意点や家庭で作り置きする際の注意点など食中毒予防策は数多く紹介されているが<sup>7, 8)</sup>、カレー調理において細菌の汚染状況を保存まで工程ごとに、また連続的に調査した報告はみあたらない。

そこで本研究では家庭での調理を想定してカレーを作り、原材料から保存に至るまで工程ごとに区分して細菌検査を行い、細菌汚染の状況を可視化した。またその結果から各調理工程および保存環境における細菌汚染低減の有効性について考察した。

## 材料および方法

## 1. カレーの原材料および調理工程

カレーの原材料にはじゃがいも、にんじん、たまねぎ、鶏もも肉（国産）、サラダ油、水道水、市販カレールウを使用した。原材料は近隣のスーパーマーケットで調査当日に購入した。

## 2. カレーの調理工程および保存環境

調理工程は、市販カレールウのパッケージを参考にした。材料を下処理後、一口大にカットしサラダ油で炒め、水を加えて沸騰後、約15分間煮込んだ。その後火を止めてからカレールウを割り入れて溶かし、再び約10分間煮込んだ。調理後はカレーの中心温度が40℃になるまで自然冷却し、小分けにして35℃または10℃で最大24時間保存した。なお、カレー調理の際、原材料取り扱い時に手袋を着用したが、その他環境からの微生物汚染に対して特別な配慮はしていない。

## 3. カレー調理の各工程における細菌検査

細菌検査は原材料購入時から保存まで、カレー調理の各工程において行った。検査を実施したタイミングを図1に示す。購入時（採水時）、下処理時、炒め後の細菌検査は、材料別に行った。煮込み、冷却、保存の細菌検査は、カレー調理液（具材を除く）を採取し実施した。細菌検査はそれぞれ独立した実験を3回実施し（購入時の鶏もも肉の

\*連絡先, E-mail : sakiko\_inatsu@toshoku.ac.jp

み4回実施), 一部の例外を除き(検出限界未満の場合など)その平均値を示した。

### 3-1. 試料の調製

#### 3-1-1. 購入時(採水時)

じゃがいも, にんじん, たまねぎ, 鶏もも肉については, それぞれ一口大にカットした後, スtomacker袋に25 gを量り取り, 滅菌生理食塩水225 mLを加え2分間手もみで攪拌し, 10倍希釈液としたものを適宜希釈して細菌検査に供した。カレールウは35 g(2個分)を包丁で細かくカットし, 滅菌生理食塩水315 mLを加えルウが溶けるまでStomacker袋中で保温した後, 攪拌し10倍希釈液としたものを適宜希釈して細菌検査に供した。水道水はメンブレンフィルター法を用いて一般生菌数を算出した。

#### 3-1-2. 下処理時

じゃがいもは洗浄後と剥皮・洗浄後に, にんじんは洗浄後と剥皮後に, たまねぎは剥皮後と洗浄後にサンプルを採取した。それぞれ一口大にカットした後, Stomacker袋に25 gを量り取り, 滅菌生理食塩水225 mLを加え2分間手もみで攪拌し, 10倍希釈液としたものを適宜希釈して細菌検査に供した。

#### 3-1-3. 炒め後

下処理後のじゃがいも, にんじん, たまねぎ, および鶏もも肉をそれぞれ中火で3分間炒めた後, Stomacker袋に25 gを量り取り, 滅菌生理食塩水225 mLを加え2分間手もみで攪拌し, 10倍希釈液としたものを適宜希釈して細菌検査に供した。

#### 3-1-4. 煮込み・冷却後

煮込み工程では, 水を加えた直後, 沸騰してから15分間煮込んだ後, 火を止めてカレールウを割り入れ溶かした直後, 再び10分間煮込んだ後に調理液(具材を除く)を採取した。それぞれStomacker袋に25 gを量り取り, 滅菌生理食塩水25 mLを加え2分間Stomackerで攪拌し, 2倍希釈液としたものを適宜希釈して細菌検査に供した。冷却後の場合も同様に調理液を採取・調製し, 細菌検査に供した。

#### 3-1-5. 保存後

冷却後の調理液(具材を除く)をStomacker袋2つに125 gずつ入れ, 35℃または10℃で保存した。保存開始から2時間後, 4時間後, 24時間後にそれぞれStomacker袋に25 gを量り取り, 滅菌生理食塩水25 mLを加え2分間Stomackerで攪拌し, 2倍希釈液としたものを適宜希釈して細菌検査に供した。

### 3-2. 細菌検査

#### 3-2-1. 一般生菌数の測定

各工程で調製した試料は滅菌生理食塩水を用いて適宜希釈し, 標準寒天培地(Millipore)を用いた混釈平板培養法により一般生菌数を算出した。

#### 3-2-2. 耐熱性菌の測定

耐熱性菌の測定は購入時のカレールウの試料でのみ実施した。10倍希釈液を85℃で10分間加熱した後, 標準寒天培地を用いた混釈平板培養法により耐熱性菌の菌数を算出した。

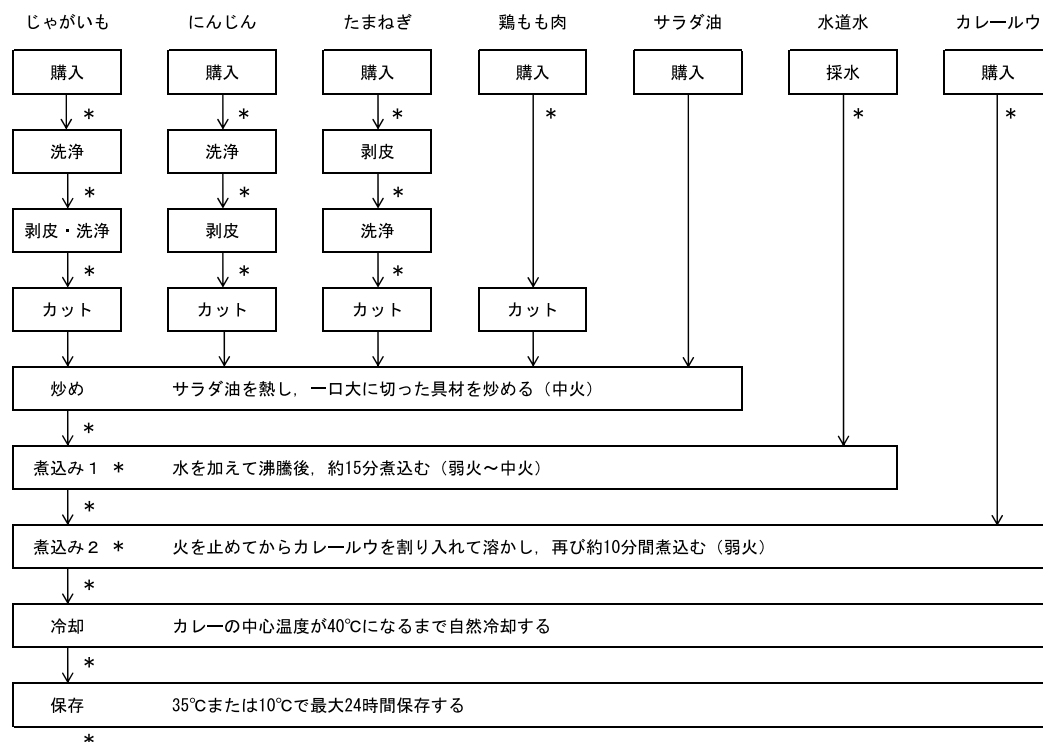


図1 カレーの調理工程と保存環境および細菌検査を実施したタイミング

\*本研究で細菌検査を実施したタイミングを示した。

#### 4. 菌株の分離と同定

購入時のカレールウの細菌検査で得られたコロニーと、35℃で24時間保存したカレー調理液の細菌検査で得られたコロニーを、白金耳または白金線を使用し標準寒天培地に植えつぎ、単一集落を得た。複数のコロニーが検出された場合、色、形、大きさの異なるものを分離培養し、同定に用いた。

分離培養後、ゲノムDNAを熱抽出した。PCR反応はBacterial 16s rDNA PCR Kit Fast (800) (Takara Bio)を用い、メーカーの指示に従い行った。精製したPCR産物を外部委託し、シーケンシングした。塩基配列をNational Center Biotechnology Information USAのBLASTプログラムで検索し、評価スコアと塩基配列の一致率をもとに属レベルの同定を行った。データベースは、BLASTプログラム中のBacteria and Archaea 16S rRNA遺伝子を用いた。

#### 結果および考察

本研究では、安心・安全なカレー作りへの提言を目指し、カレー調理を原材料から保存に至るまで工程ごとに区

分して細菌検査を行い、汚染状況を可視化した。カレー調理の各工程および保存後に検出された一般生菌数を図2に示す。カレーの原材料であるじゃがいも、にんじん、たまねぎ、鶏もも肉、水道水、カレールウは、購入および採水した時点で細菌による汚染を受けており、その汚染度は $0.1 \sim 6.0 \text{ Log cfu/g}$ となり、材料ごとに異なっていた(図2)。中でもじゃがいもの汚染度は最も高く、購入時の一般生菌数は $6.0 \text{ Log cfu/g}$ だった(図2)。じゃがいも、にんじん、たまねぎに付着する一般生菌数は下処理工程を経るにつれて減少し、じゃがいもに付着する一般生菌数は、炒め後には $1.6 \text{ Log cfu/g}$ となった(図2)。にんじんとたまねぎについては検出限界( $1.0 \times 10^1 \text{ cfu/g}$ )未満となった(図2)。また、鶏もも肉も購入時はじゃがいもに次いで一般生菌数が多かったが、炒め工程によって $1.9 \text{ Log cfu/g}$ にまで大幅に減少した(図2)。下処理・加熱工程によって根菜類に付着する一般生菌数は減少することが報告されている<sup>9)</sup>。本研究においてもじゃがいもは剥皮後に再度洗浄する、にんじんは洗浄したのち剥皮する、たまねぎは剥皮し洗浄する、という下処理を実施すること、そして炒め工程における加熱処理で一般生菌による汚染度は大幅に低減できることが明らかになった。

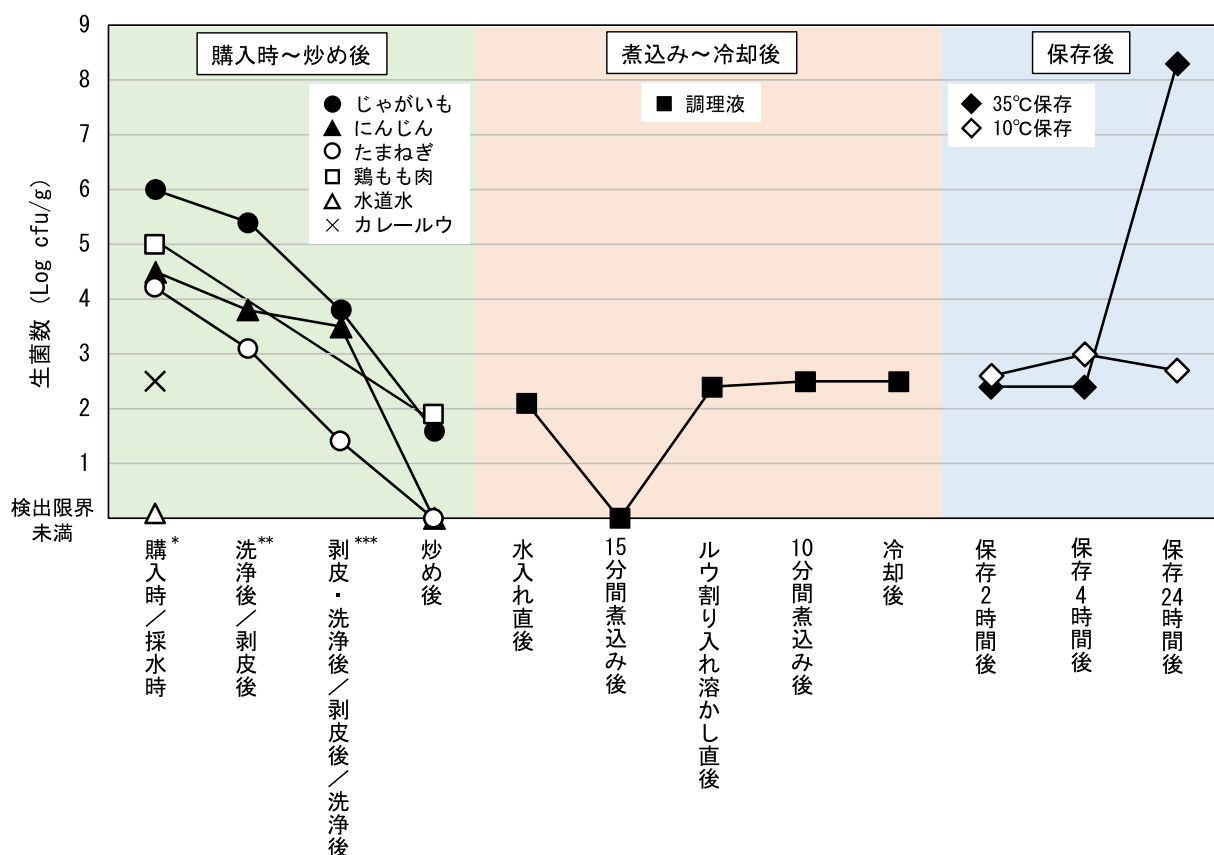


図2 カレー調理の各工程および保存後に検出された一般生菌数

\*じゃがいも、にんじん、たまねぎ、鶏もも肉、カレールウは購入時、水道水は採水時の一般生菌数を示した。

\*\*じゃがいも、にんじんは洗浄後(皮付き)、たまねぎは剥皮後の一般生菌数を示した。

\*\*\*じゃがいもは剥皮・洗浄後、にんじんは剥皮後、たまねぎは洗浄後の一般生菌数を示した。

表1 菌株の同定結果

試料	菌株名	属名 <sup>1)</sup>	Max score <sup>2)</sup>	Identity (%) <sup>3)</sup>
カレールウ (購入時)	#9	<i>Bacillus</i> 属	1,349	99.0
	#10	<i>Bacillus</i> 属	1,373	99.7
	#11	<i>Bacillus</i> 属	1,375	99.6
	#12	<i>Bacillus</i> 属	1,345	98.7
	#13	<i>Bacillus</i> 属	1,373	99.6
カレー調理液 (35℃で24時間保存後)	#6	<i>Bacillus</i> 属	1,371	99.5
	#7	<i>Bacillus</i> 属	1,101	93.3
	#8	<i>Bacillus</i> 属	1,371	99.7
	#14	<i>Bacillus</i> 属	1,396	99.5
	#15	<i>Bacillus</i> 属	1,390	99.7
	#16	<i>Bacillus</i> 属	1,396	99.5
	#17	<i>Bacillus</i> 属	1,396	99.5
	#18	<i>Leuconostoc</i> 属	1,264	99.3

<sup>1)</sup> 検索結果において最上位のスコアを示した属名を示した。

<sup>2)</sup> BLASTプログラムを用いた検索の評価値を示した。

<sup>3)</sup> 分離した菌株との塩基配列一致率を示した。

カレー調理では煮込み工程が食中毒や変敗を防ぐ重要な工程となる。本研究では煮込み工程を、水を加えた直後、沸騰してから15分間煮込んだ後、火を止めてカレールウを割り入れ溶かした直後、再び10分間煮込んだ後の4つに区分し、細菌検査を行った。その結果、水を加えた直後のカレー調理液からは一般生菌が2.1 Log cfu/g検出された(図2)。これは、炒め工程後の原材料に生残した細菌に由来すると考えられる。水を加えて沸騰後15分間煮込んだ後のカレー調理液では検出限界(1.0×10<sup>1</sup> cfu/g)未満になった(図2)。しかし、カレールウを割り入れ溶かした直後の調理液からは、2.4 Log cfu/gの一般生菌が検出され、完成したカレー(10分間煮込み後)からも同程度検出された(図2)。カレールウの微生物汚染は10<sup>3</sup> cfu/g程度で、その大部分は耐熱性菌であると報告されている<sup>10)</sup>。本研究においても購入時のカレールウからは一般生菌が2.5 Log cfu/g(図2)、図2には示していないが耐熱性菌を測定すると2.6 Log cfu/g検出された。従って完成したカレーに生残した細菌はカレールウに由来する耐熱性菌である可能性がある。

カレーをその日のうちに食べることができない場合、細菌の増殖を抑えるために適切な方法で保存しなければならない。本研究では、完成したカレーを冷却後、小分けにして35℃または10℃の条件下で最大24時間まで保存し、経時的に一般生菌数を調査した。保存2時間後、4時間後では、35℃保存・10℃保存ともに保存前(冷却後)と同程度の一般生菌が検出された(図2)。しかし、保存24時間後では35℃保存の場合、一般生菌数が8.3 Log cfu/gまで増加し(図2)、オフフレーバーも発生した。10℃保存の場合、一

般生菌数の増加はみられず(図2)、オフフレーバーの発生もなかった。このことから、10℃での保存は細菌の増殖を抑制し、食品の腐敗・変敗を防ぐことがわかった。

本研究では、購入時のカレールウから分離した5菌株、35℃で24時間保存したカレー調理液から分離した8菌株について同定を行った。その結果、カレールウから分離した菌株は全て*Bacillus*属だった(表1)。35℃で24時間保存したカレー調理液から分離した菌株は、8菌株のうち7菌株が*Bacillus*属だった(表1)。したがって、35℃で24時間保存したカレー調理液中で増殖した細菌は、カレールウ由来である可能性がある。*Bacillus*属の細菌は、自然環境中に広く存在し、カレールウの原材料となる小麦粉にも存在する<sup>11)</sup>。また*Bacillus*属は、食品の腐敗・変敗や食中毒の原因菌でもあり<sup>12, 13)</sup>、レトルトカレーを変敗させた事例もある<sup>13, 14)</sup>。本研究において、カレールウを割り入れ溶かした直後の調理液からは2.4 Log cfu/gの一般生菌が検出され、その後10分間煮込んでも減少せず、完成したカレーや冷却後のカレーからも同程度、検出された(図2)。カレールウを入れ10分間煮込んだ際の最終的な品温は実験によって差があり、84.5℃から99.3℃であった。ここでは高々99℃で10分間煮込んだとして耐熱性芽胞の生残率を理論的に算出する。カレールウを割り入れ溶かした直後の調理液に存在した細菌を*Bacillus*属の中でも耐熱性の高い芽胞を形成する*Bacillus subtilis*と仮定する。*B. subtilis*の耐熱性は低いものでD<sub>99</sub>=23.2分、高いものでD<sub>99</sub>=677.6分である<sup>15)</sup>。初発菌数aと加熱後の生残菌数bの間には $b=ax10^{-(t/D)}$ の関係が成り立つことが知られており(D:対象芽胞のD値, t:加熱時間)<sup>16)</sup>、



これを用いると*B. subtilis*の芽胞は99℃で10分間の加熱後に耐熱性が低いもので37%, 高いもので97%生残することがわかる。

今回、市販カレールーから*Bacillus*属が検出されたが、カレールーの水分活性は非常に低く、適切に保存すれば微生物が増殖することはない<sup>17)</sup>。しかし、出来上がり時のカレーには耐熱性菌が生残している可能性がある。そのため調理後は早めの喫食が望ましい。調理後のカレーを保存する場合は、小分けにして冷蔵庫で保存するなど加熱後に生残した芽胞の発芽・増殖を制御する必要がある。また、温め直す場合は、中心部まで十分に加熱し栄養細胞を死滅させることが重要である。なお、*Leuconostoc*属は水や製造環境中に多く存在する<sup>18)</sup>。ヒトや環境由来の細菌汚染を低減させるために、調理の際には身支度や調理環境を整えることも重要である。

### 参考文献

- 1) 藤井建夫：食品の腐敗と微生物。株式会社幸書房，東京（2012）。
- 2) 食品衛生監視員のための“実例から学ぶ食中毒”。阿部和男，赤堀正光，齋藤紀行編。「行政と食中毒」改訂版制作委員会，東京（2017）。
- 3) 日本人の食生活を読み解くデータ総覧2006。生活情報センター編集部編。生活情報センター，東京（2005）。
- 4) 食生活データ総合統計年報2023。三冬社編集制作部編。株式会社三冬社，東京（2023）。
- 5) 生川美江，磯部由香，平島円，中井茂平：小学生の家庭における食事作りの実態。三重大学教育学部研究紀要，71，159–163（2020）。
- 6) 厚生労働省：食中毒統計資料。 [https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou\\_iryuu/shokuhin/syokuchu/04.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuchu/04.html)（2023年6月8日）。
- 7) 消費者庁：Vol.405知って安心，食品の注意点～カレーや煮物の作り置きに注意～。 [https://www.caa.go.jp/policies/policy/consumer\\_safety/child/project\\_001/mail/20180614/](https://www.caa.go.jp/policies/policy/consumer_safety/child/project_001/mail/20180614/)（2023年6月8日）。
- 8) 近畿農政局：カレーの保存には注意が必要です!!。 <https://www.maff.go.jp/kinki/syouhi/mn/foodpoisoning/curry.html>（2023年6月8日）。
- 9) 加藤和子，駒込乃莉子，峯木真知子，森田幸雄：炊き込みご飯に使用するにんじんおよびごぼうの細菌汚染状況。日本家政学会誌，70，609–616（2019）。
- 10) 太田輝夫，中野政弘：食品中の微生物の分布に関する研究（第1報）。食糧研報告，18，105–110（1964）。
- 11) 梶原景光：小麦粉の微生物がその加工食品の品質におよぼす影響。化学と生物，10，93–100（1972）。
- 12) 上田成子：第5章孢子形成細菌の分離・同定 第1節 *Bacillus*属細菌を中心に。pp.111–120，株式会社サイエンスフォーラム，千葉（2011）。
- 13) 内藤茂三：第3章*Bacillus*属細菌による食品変敗。食品の変敗微生物 その原因菌と制御。pp.75–105，株式会社幸書房，東京（2016）。
- 14) 桑原祥浩：食品の微生物変敗と防止技術。アサマNEWS パートナー，174，1–4（2016）。
- 15) 遠田昌人：第3節缶詰・レトルト食品。現場必須 微生物殺菌実用データ集。pp.70–80，株式会社サイエンスフォーラム，東京（2007）。
- 16) 松田典彦，藤原忠：容器詰食品の加熱殺菌（理論および応用）。公益社団法人日本缶詰協会，東京（2013）。
- 17) 全日本カレー工業共同組合：カレー（カレー粉，カレールー）の賞味期限設定について。 [http://www.curry.or.jp/knowledge/imgs/currydate\\_140618.pdf](http://www.curry.or.jp/knowledge/imgs/currydate_140618.pdf)（2023年6月8日）。
- 18) 内藤茂三：乳酸菌と酵母による食品工場汚染と食品の異臭変敗。におい・かおり環境学会誌，41，226–239（2010）。