

## 冷凍検食の解凍条件が細菌検出精度に及ぼす影響

村上 和保, 本松 京子, 大江 和子, 笹野 千穂,  
道祖 友美, 新庄 朗子, 正下久美子

(2007年10月10日 受理)

### The Effects of the Thawing Method of Test Food on the Accuracy of Bacterial Counts

Kazuyasu MURAKAMI, Kyoko HONMATSU, Kazuko OHE, Chiho SASANO,  
Tomomi SAYA, Akiko SHINJYO and Kumiko SHOHGE

#### Abstract

Bulk-meal kitchens are required to maintain food samples prepared by them for later food sanitary inspection; however, the method of thawing the prepared food samples at the inspection is not specified by regulations. We focused on this point and conducted the present experiment to investigate the appropriate thawing method. We have used domestic minced beef available on the open market. After freezing samples, they were thawed at 45°C, 20°C and 3°C and bacteriological examination was conducted in addition to visual inspection. The result showed that the samples thawed at 3°C could reproduce conditions of the pre-frozen samples most stably. The reproduced conditions included the appearance of the samples as the result of the visual inspection. In summary, the most desirable temperature for thawing prepared foods for inspection is at 3°C. In addition, food samples taken before freezing should be in small quantities or flattened if possible. Such a precaution would save time in both freezing and thawing and should result in better reproducibility and rapidity required in food sanitary inspection.

#### I 緒 言

大量調理を行う施設では検食を 50 g 程度ずつ清潔な容器に密封して、 $-20^{\circ}\text{C}$  で 2 週間以上保存することが義務付けられている<sup>1)</sup>。この目的は言うまでもなく、食事提供後に異常や問題が発生した時、その原因究明のためである<sup>2)</sup>。そして実際にそうした事態が発生した場合、食品検査現場では冷凍検食を解凍して必要な検査・調査を実施することとなるが、その際の検査

検体の解凍方法は明確に規定されていない。参考になるものとしては、食品衛生検査指針（微生物編2004年版）に『45℃以下で15分以内、あるいは2～4℃で18時間以内に解凍すること』という記述があるに過ぎない<sup>3)</sup>。したがって、食品衛生検査を行う専門機関においても検体の解凍方法は不統一で、検査現場に一任されているのが現状である。解凍方法の違いが検査精度に影響する可能性は十分あり、場合によっては誤った見解をもたらす危険も潜んでいる。もしもそれが食中毒事件などの原因究明を目的とする検査であったなら、問題は重大である。

われわれは上記のような事情を考慮し、冷凍した検食の解凍方法の違いが食品中の微生物の検出精度、あるいは検体の目視上にどのような影響を示すのかに関する基礎的な検討を行い、食品検査における冷凍保存検食の適正な解凍方法を模索しようとして本研究を行った。

## Ⅱ 実験方法

細菌学的検討には代表的な7つの細菌のグループを選び<sup>4), 5)</sup>、以下のような方法で検出した<sup>6), 7), 8), 9)</sup>。

### (1) 使用した培地・希釈液

#### 1) 一般細菌数の測定

標準寒天培地（日水製薬）を使用し、35℃、48時間、好気条件で培養した。

#### 2) グラム陽性菌の検出

5%ヒツジ血液加・コロンビア CNA 寒天（BBL）を使用し、35℃、48時間、好気条件で培養した。

#### 3) グラム陰性菌の検出

CVT 寒天（日水製薬）を使用し、35℃、48時間、好気条件で培養した。

#### 4) 大腸菌群の検出

デソキシコレート培地（日水製薬）を使用し、35℃、20時間、好気条件で培養した。

#### 5) 嫌気性菌の検出

クロストリジア培地（日水製薬）を使用し、培養は嫌気培養ジャーに嫌気パック（三菱ガス；アネロパック）とシャーレを入れ、35℃、24時間、嫌気条件で培養した。

#### 6) 低温細菌数の測定

標準寒天培地（日水製薬）を使用し、7℃、10日間、好気条件で培養した。

#### 7) 好塩細菌の検出

3% NaCl 加・普通寒天培地（日水製薬）を使用し、30℃、48時間好気条件で培養した。

## 8) 希釈液

希釈液として滅菌リン酸生理食塩水を使用し、NaCl の濃度は0.85%とした。この生理食塩水 1000 ml に対して 34 g の  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  を精製水 500 ml で溶解後、175 ml の 1N NaOH を加え 1000 ml として、pH を 7.2 に調整したストック液を 1.25 ml の割合で加えて調製した。

## (2) 実験検体

国産和牛ミンチを広島市内のスーパーマーケット 3 店舗から購入し、店舗別に 50 g ずつに分取した。対照の実験は試料を購入した当日実施し、他の実験は一部を除いて厚さ約 5 mm になるようにして滅菌パック内に入れ、フリーザー（SANYO:MEDICAL FREEZER）において  $-23\sim-24^{\circ}\text{C}$  で 7 日間冷凍保存した後、解凍の影響をみる実験に供した。

## (3) 菌の検出における検体の解凍方法および培養方法

### 1) 対照の実験手順

- ①ストマフィルターに試料を 10~20 g 採取し、9 倍量の希釈液を加えてストマッカー（オルガノ：ストマッカー400-T）によりホモジネート（元の試料の10倍希釈液）を得た。
- ②上記ホモジネートを順次10倍希釈し、該当する希釈倍率のシャーレにそれぞれ 1 ml ずつ入れていった。
- ③シャーレに各培地を流し込み、混釈した。なお、低温細菌の測定のみ、混釈せず、所定の平板培地へ 0.1 ml ずつ採取しコンラージ棒で塗抹した。
- ④培地が固まったら、シャーレを倒置し、それぞれ (1) に記した条件で培養した。
- ⑤培養後、生育したコロニーをカウントし、それぞれ 3 例の平均値で示した。

### 2) 解凍の影響を見る実験の手順

7 日間の冷凍保存後、 $45^{\circ}\text{C}$ 、 $20^{\circ}\text{C}$  あるいは  $3^{\circ}\text{C}$  に設定した恒温水槽中に滅菌パックごと浸漬して解凍した。なお、細菌学的検討における解凍温度と時間は、 $45^{\circ}\text{C}$  で15分、 $20^{\circ}\text{C}$  で3時間および  $3^{\circ}\text{C}$  で5時間とした。解凍後の各試料の取り扱いについては、対照の実験手順（①~⑤）と同様に行った。一方、検体の厚さと解凍時間との関係の検討についても同様に行い、最短の解凍時間とその時の検体の肉眼的観察を行った。

### Ⅲ 実 験 結 果

#### (1) 解凍条件の違いが細菌学的検討に与える影響

##### 1) 一般生菌数

対照(冷凍前)の一般生菌数は $7.9 \times 10^4$ 個/mlであった。一方、凍結検体を $45^\circ\text{C} \cdot 15$ 分間で解凍後は $5.6 \times 10^4$ 個/ml,  $20^\circ\text{C} \cdot 3$ 時間では $1.2 \times 10^5$ 個/ml,  $3^\circ\text{C} \cdot 5$ 時間では $7.8 \times 10^4$ 個/mlになった。したがって一般生菌数においては、対照に最も近い菌数を示したのは $3^\circ\text{C} \cdot 5$ 時間での解凍で、以下、 $45^\circ\text{C} \cdot 15$ 分間,  $20^\circ\text{C} \cdot 3$ 時間の順となった。

##### 2) グラム陽性菌数

対照(冷凍前)のグラム陽性菌数は $6.2 \times 10^4$ 個/mlであった。一方、凍結検体を $45^\circ\text{C} \cdot 15$ 分間で解凍後は $6.5 \times 10^4$ 個/ml,  $20^\circ\text{C} \cdot 3$ 時間では $9.6 \times 10^4$ 個/ml,  $3^\circ\text{C} \cdot 5$ 時間では $7.0 \times 10^4$ 個/mlになった。したがって本検討項目において、対照に最も近い値を示したのは $45^\circ\text{C} \cdot 15$ 分間での解凍で、以下、 $3^\circ\text{C} \cdot 5$ 時間,  $20^\circ\text{C} \cdot 3$ 時間の順となった。

##### 3) グラム陰性菌数

対照(冷凍前)のグラム陰性菌は $3.3 \times 10^3$ 個/mlであった。一方、凍結検体を $45^\circ\text{C} \cdot 15$ 分間で解凍後は $1.9 \times 10^3$ 個/ml,  $20^\circ\text{C} \cdot 3$ 時間では $4.0 \times 10^3$ 個/ml,  $3^\circ\text{C} \cdot 5$ 時間では $2.6 \times 10^3$ 個/mlになった。したがって本検討項目において、対照に最も近い値を示したのは $20^\circ\text{C} \cdot 3$ 時間での解凍で、以下、 $3^\circ\text{C} \cdot 5$ 時間,  $45^\circ\text{C} \cdot 15$ 分間の順となった。

##### 4) 大腸菌群数

対照(冷凍前)の大腸菌群数は $2.3 \times 10^3$ 個/mlであった。一方、凍結検体を $45^\circ\text{C} \cdot 15$ 分間で解凍後は $1.2 \times 10^3$ 個/ml,  $20^\circ\text{C} \cdot 3$ 時間では $4.4 \times 10^3$ 個/ml,  $3^\circ\text{C} \cdot 5$ 時間では $1.2 \times 10^3$ 個/mlになった。したがって本検討項目において、対照に最も近い値を示したのは $3^\circ\text{C} \cdot 5$ 時間の解凍で、以下、 $45^\circ\text{C} \cdot 15$ 分間,  $20^\circ\text{C} \cdot 3$ 時間の順となった。

##### 5) 嫌気性菌数

対照(冷凍前)の嫌気性菌数は $8.7 \times 10^2$ 個/mlであった。一方、凍結検体を $45^\circ\text{C} \cdot 15$ 分間で解凍後は $4.1 \times 10^2$ 個/ml,  $20^\circ\text{C} \cdot 3$ 時間では $9.4 \times 10^2$ 個/ml,  $3^\circ\text{C} \cdot 5$ 時間では $6.1 \times 10^2$ 個/mlになった。したがって本検討項目において、対照に最も近い値を示したのは $20^\circ\text{C} \cdot 3$ 時間での解凍で、以下、 $3^\circ\text{C} \cdot 5$ 時間,  $45^\circ\text{C} \cdot 15$ 分間の順となった。

##### 6) 低温菌数

対照(冷凍前)の低温菌数は $2.1 \times 10^5$ 個/mlであった。一方、凍結検体を $45^\circ\text{C} \cdot 15$ 分間で解凍後は $8.9 \times 10^4$ 個/ml,  $20^\circ\text{C} \cdot 3$ 時間では $2.3 \times 10^5$ 個/ml,  $3^\circ\text{C} \cdot 5$ 時間では $1.3 \times 10^5$ 個/mlに

なった。したがって本検討項目において、対照に最も近い値を示したのは $20^{\circ}\text{C} \cdot 3$ 時間での解凍で、以下、 $3^{\circ}\text{C} \cdot 5$ 時間、 $45^{\circ}\text{C} \cdot 15$ 時間の順となった。

#### 7) 好塩菌数

対照（冷凍前）の好塩菌数は $6.6 \times 10^4$ 個/mlであった。一方、 $45^{\circ}\text{C} \cdot 15$ 時間での解凍後は $6.8 \times 10^4$ 個/ml、 $20^{\circ}\text{C} \cdot 3$ 時間では $9.1 \times 10^4$ 個/ml、 $3^{\circ}\text{C} \cdot 5$ 時間では $7.0 \times 10^4$ 個/mlであった。したがって本検討項目において、対照に最も近い値を示したのは $45^{\circ}\text{C} \cdot 15$ 時間での解凍で、以下、 $3^{\circ}\text{C} \cdot 5$ 時間、 $20^{\circ}\text{C} \cdot 3$ 時間の順となった。

### (2) 細菌学的検討における結果のまとめ

調べた7項目について3つの解凍条件で得られた結果を対照値に近い順に1番～3番まで序列をつけ、順位の数値を積算し平均値を求めて評価してみると、 $3^{\circ}\text{C} \cdot 5$ 時間が1.71、 $45^{\circ}\text{C} \cdot 15$ 分と $20^{\circ}\text{C} \cdot 3$ 時間がともに2.14になった。また、対照と比べ3条件のうちで最も値が外れているケースに $3^{\circ}\text{C}$ は7項目のうちで1つも該当しなかった。さらに、食品衛生分野の代表的な

表1 解凍条件が細菌学的検討の再現性に与える影響

細菌学的 検討項目	対 照	解 凍 後			
	菌 数 <sup>*</sup> (対 数)	解凍条件	菌 数 <sup>*</sup>	対 数	対照値との 差異の序列 <sup>**</sup>
一般生菌数	$7.9 \times 10^4$ (4.90)	$45^{\circ}\text{C} \cdot 15$ 分	$5.6 \times 10^4$	4.75	②
		$20^{\circ}\text{C} \cdot 3$ 時間	$1.2 \times 10^5$	5.09	③
		$3^{\circ}\text{C} \cdot 5$ 時間	$7.8 \times 10^4$	4.89	①
グラム陽性 菌 数	$6.2 \times 10^4$ (4.79)	$45^{\circ}\text{C} \cdot 15$ 分	$6.5 \times 10^4$	4.82	①
		$20^{\circ}\text{C} \cdot 3$ 時間	$9.6 \times 10^4$	4.98	③
		$3^{\circ}\text{C} \cdot 5$ 時間	$7.0 \times 10^4$	4.85	②
グラム陰性 菌 数	$3.3 \times 10^3$ (3.52)	$45^{\circ}\text{C} \cdot 15$ 分	$1.9 \times 10^3$	3.29	③
		$20^{\circ}\text{C} \cdot 3$ 時間	$4.0 \times 10^3$	3.60	①
		$3^{\circ}\text{C} \cdot 5$ 時間	$2.6 \times 10^3$	3.41	②
大腸菌群数	$2.3 \times 10^3$ (3.36)	$45^{\circ}\text{C} \cdot 15$ 分	$1.2 \times 10^3$	3.07	②
		$20^{\circ}\text{C} \cdot 3$ 時間	$4.4 \times 10^3$	3.65	③
		$3^{\circ}\text{C} \cdot 5$ 時間	$1.2 \times 10^3$	3.09	①
嫌気性菌数	$8.7 \times 10^2$ (2.94)	$45^{\circ}\text{C} \cdot 15$ 分	$4.1 \times 10^2$	2.62	③
		$20^{\circ}\text{C} \cdot 3$ 時間	$9.4 \times 10^2$	2.97	①
		$3^{\circ}\text{C} \cdot 5$ 時間	$6.1 \times 10^2$	2.78	②
低温菌数	$2.1 \times 10^5$ (5.33)	$45^{\circ}\text{C} \cdot 15$ 分	$8.9 \times 10^4$	4.95	③
		$20^{\circ}\text{C} \cdot 3$ 時間	$2.3 \times 10^5$	5.36	①
		$3^{\circ}\text{C} \cdot 5$ 時間	$1.3 \times 10^5$	5.11	②
好塩菌数	$6.6 \times 10^4$ (4.82)	$45^{\circ}\text{C} \cdot 15$ 分	$6.8 \times 10^4$	4.83	①
		$20^{\circ}\text{C} \cdot 3$ 時間	$9.1 \times 10^4$	4.96	③
		$3^{\circ}\text{C} \cdot 5$ 時間	$7.0 \times 10^4$	4.84	②

<sup>\*</sup> 菌数の単位は個/gである。

<sup>\*\*</sup> 対照値に近い値から順に①，②，③で表した。

汚染指標菌である一般生菌数と大腸菌群数の2項目に限ってみても、 $3^{\circ}\text{C} \cdot 5$ 時間の解凍が最もよい再現性を示したことも考慮すると、 $3^{\circ}\text{C} \cdot 5$ 時間の解凍が最もよい再現性を示したといえる(表1)。

### (3) 解凍に要する時間の検討および検体の肉眼的変化の観察

#### 1) $45^{\circ}\text{C}$ における解凍

細菌学的検討と同一の解凍条件同士と比較すると、 $45^{\circ}\text{C} \cdot 15$ 分の解凍においては、ドリップの発生および検体の色調変化が $20^{\circ}\text{C} \cdot 3$ 時間や $3^{\circ}\text{C} \cdot 5$ 時間と比べて顕著であった(写真1)。さらに検体の解凍に要する最短時間についても検討したところ、50 gで厚さ約5 mmの検体では4分で解凍が可能であった。しかし、この場合でも程度は軽いがやはりドリップの発生と色調の変化はみられた(写真2)。一方、検体を写真3に示したように厚い固まりで凍結した場合、解凍に18分を要し、かつドリップの発生および色調変化が認められた。



写真1 薄くして冷凍した検体を $45^{\circ}\text{C} \cdot 15$ 分で解凍



写真2 薄くして冷凍した検体を $45^{\circ}\text{C} \cdot 4$ 分で解凍



写真3 厚くして冷凍した検体を $45^{\circ}\text{C} \cdot 18$ 分で解凍



写真4 対 照

## 2) 20°C における解凍

細菌学的検討と同一の解凍条件（20°C・3時間）では、ドリップの発生および色調の変化も認められたが、45°C と比べるとその程度は軽度であった（写真5）。一方、検体の解凍に要する最短時間は21分であり、その際、ドリップはいくらか発生したが、色調変化はほとんど認められなかった（写真6）。さらに、検体を厚い固まりで凍結した場合、解凍に32分を要し、少量のドリップの発生を認めたものの色調変化はほとんど認められなかった（写真7）。



写真5 薄くして冷凍した検体を20°C・3時間で解凍



写真6 薄くして冷凍した検体を20°C・21分で解凍



写真7 厚くして冷凍した検体を20°C・32分で解凍



写真8 対 照

## 3) 3°C における解凍

細菌学的検討と同一の解凍条件（3°C・5時間）における検体の肉眼的変化はほとんど認められなかった（写真9）。一方、解凍に要する最短時間は60分であり、その際、ドリップの発生および色調変化はほとんど認められなかった（写真10）。さらに、検体を厚い固まりで凍結した場合、解凍に3時間20分を要したが、この条件でもドリップの発生および色調変化はほとんど認められなかった（写真11）。





写真9 薄くして冷凍した検体を3℃・5時間で解凍



写真10 薄くして冷凍した検体を3℃・60分で解凍



写真11 厚くして冷凍した検体を3℃・3時間20分で解凍



写真12 対 照

#### IV 考 察

本研究は大量調理施設で義務付けられている食品検査用の冷凍保存検食において、食品検査の際に解凍条件が統一されていないという現状の問題点に着目し、適正な解凍条件を検討することを主な目的として行われた。

検討した解凍温度は、45℃、20℃ および 3℃ の 3 種類で、これらの温度を解凍温度として選んだ理由は次のとおりである。まず45℃ と 3℃ については、食品衛生検査指針（微生物編 2004年版）にある「冷凍状態の食品検体の解凍は、45℃ 以下で15分以内、あるいは2～3℃ で18時間以内に検査を実施する」という記述を参考にした<sup>3)</sup>。20℃ については、凍結卵を解凍する方法のうち最も一般的なものとして「流水解凍、常温解凍およびそれらの併用」という条件がある<sup>10)</sup> ので、代表的な温度として20℃ を選んだ。

細菌学的な検討結果においては、3条件で極端な差はなかったものの、検討した項目全般に



わたり 3℃・5 時間での解凍が最も良い再現性を示した。さらに、食品衛生において重要度の高い指標である一般生菌数と大腸菌群数の 2 項目に限ってみても、3℃での解凍が最も優れていた。

食品衛生検査は細菌学的項目以外にも当然想定しておかなければならない。特に検査現場で必ず最初に行うのが目視検査と官能検査で、これに続いて状況に応じた各検査へと移るような手順をとる。したがって、目視検査や官能検査における再現性も重要な観点となる。この点で評価すると、ドリップの発生、色調変化などの点で 45℃・15 分の解凍には明らかに問題があり、20℃・3 時間の解凍も程度は軽いものの、やはり多少問題が残る。これに対して、3℃・5 時間の解凍はこれらの点でも優れていた。

凍結した保存検査の解凍は温度が高いほど短時間で解凍できる。したがって迅速性という観点から言うと 45℃ に利があるが、上述のようにドリップ発生、色調変化の点で無視できない問題がある。一方、検査現場では実用性、簡便性の面で常温や流水下、すなわち 20℃ 付近での解凍をしばしば行うことがある。結果として、今回調べた範囲では概ね良好であったが、20℃の解凍では検体中のヒスタミン量が増加してしまうという問題が指摘されており<sup>11)</sup>、アレルギーに関する食品検査が今後増える可能性があることを考慮するとこの点は留意すべきである。他方、3℃での解凍は再現性には優れていたが、不利な点は、解凍に時間がかかるということである。しかし薄く凍結した検体なら 60 分で解凍可能で、これは食品検査においては十分実用的な時間といってよい。さらに 3℃ではヒスタミン量の変化もほとんど認められないとされているのでこの点でも望ましいといえる。

以上の結論として、食品検査において冷凍保存検査を解凍する温度としては冷蔵温度、特に 3℃以下が望ましい。そして、凍結時に検査を薄く伸ばす（あるいは少量ずつに分取する）などの工夫をすることで、解凍時間を十分実用的なレベルまで短縮できることが示された。食品の細菌検査精度を高めるためには凍結に要する時間を短くすることが重要という知見<sup>12),13)</sup>を考慮すると、検体を薄くして凍結保存することは検査精度の向上と解凍時間短縮という 2 つの利点をもたらす。今後は、肉以外の生鮮食材、加熱調理済み食品や加工食品も対象とした検討を行い、より普遍的な見解を明らかにしていきたい。

## V 要 約

大量調理を行う施設では食品検査用として検査を 50 g 程度ずつ、-20℃以下で 2 週間以上保存することが義務付けられている。そして、検査の際には、冷凍した検査を使用して必要な検査を実施することとなるが、その際の解凍方法が明確に規定されていないため、各検査現場

に一任されているのが現状である。そこで我々は、冷凍検食の解凍条件の違いが食品中の細菌の検出精度にどのような影響を示すのかを中心に実験を行い、適正な解凍方法を検討するために本研究を行った。実験検体には市販の国産和牛ミンチを用い、 $-23\sim 24^{\circ}\text{C}$  で冷凍保存した検体 50 g を、 $45^{\circ}\text{C}\cdot 15\text{分}$ 、 $20^{\circ}\text{C}\cdot 3\text{時間}$ 、 $3^{\circ}\text{C}\cdot 5\text{時間}$  の条件で解凍し、①一般生菌数、②グラム陽性菌、③グラム陰性菌、④大腸菌群、⑤嫌気性菌、⑥低温細菌、⑦好塩細菌の7項目の細菌群について対照（冷凍凍結前）と比較し、再現性の良否を調べた。併せて目視によりドリップの発生、色調の変化を調べた。さらに、凍結時の検体の厚さの違いによる解凍時間の長短についても比較検討した。その結果、各細菌項目において解凍条件の違いは検出結果に大きな差異をもたらさなかったが、代表的汚染指標である一般生菌数、大腸菌群数については、 $3^{\circ}\text{C}\cdot 5\text{時間}$  解凍で最も再現性が高かった。また、7項目全般にわたり、 $3^{\circ}\text{C}\cdot 5\text{時間}$  の解凍が再現性において優れていた。目視検査においては、 $45^{\circ}\text{C}\cdot 15\text{分}$  と  $20^{\circ}\text{C}\cdot 3\text{時間}$  の解凍では、程度は違うが色調変化、ドリップ発生がみられたが、 $3^{\circ}\text{C}\cdot 5\text{時間}$  ではこのような変化はみられなかった。解凍に要する時間を検討するために、検食を薄く伸ばして凍結した場合、 $45^{\circ}\text{C}$  では4分、 $20^{\circ}\text{C}$  では20分、 $3^{\circ}\text{C}$  では60分にまで解凍時間が短縮できた。これらの条件で解凍すると、 $45^{\circ}\text{C}\cdot 4\text{分}$  および  $20^{\circ}\text{C}\cdot 20\text{分}$  では程度の違いはあれ色調あるいはドリップで変化を認めたが、 $3^{\circ}\text{C}\cdot 60\text{分}$  では全く変化はみられなかった。以上をまとめると、食品検査において冷凍保存検食を解凍する温度としては  $3^{\circ}\text{C}$  が望ましいといえる。そして、凍結時に検食を薄く伸ばす、あるいは少量ずつに分取して凍結するなどの工夫をすれば、凍結時間と解凍時間の両方を短縮でき、結果的に食品衛生検査の再現性向上と検査で要求される迅速性にも十分に対応できると考えられる。

## 参 考 文 献

- 1) 大量調理施設衛生管理マニュアル 平成15年8月29日 食安発第0829008号
- 2) 芦川修貳, 古畑 公: 栄養士のための給食実務論 (株) 学建書院 P 38-40 (2005)
- 3) 厚生労働省慣習: 食品衛生検査指針微生物編 2004年版 社団法人日本食品衛生協会 P 64 (2004)
- 4) 清水 潮: 食品微生物 I—基礎編 食品微生物の科学 (株) 幸書房 P 11-24 (2001)
- 5) 日本微生物学会: 微生物学辞典 P 289, P 331, P 633, P 703 (株) 技報堂出版 (1989)
- 6) 栄研マニュアル 栄研化学株式会社 (1973)
- 7) 細菌・真菌・原虫用培地「ニッスイ」マニュアル第4版 日水製薬株式会社 (1987)
- 8) Difco & BBL Manual P 156-157 Becton, Dickinson and company (2003)
- 9) 製品要覧 I 16版 日水製薬株式会社 (1996)
- 10) 春田三佐夫, 細貝祐太郎, 宇田川俊一: 目で見える食品衛生検査法 P 226-227 中央法規出版 (1992)
- 11) 冷凍魚の品質管理に関する研究 —冷凍カツオの処理工程におけるヒスタミンの挙動— 鹿児島県工業技術センター研究報告 No. 14 35-38 (2000)

- 12) 天野慶之, 河端俊治: 冷凍食品と食品衛生 (株) 新思潮社 P 99, P 144-156 (1974)
- 13) 清水 潮, 駒形和男, 田中芳一, 仲西寿男, 那須正夫, 藤井建夫: 食品危害微生物ハンドブック P 254-265 (株) サイエンスフォーラム (2001)