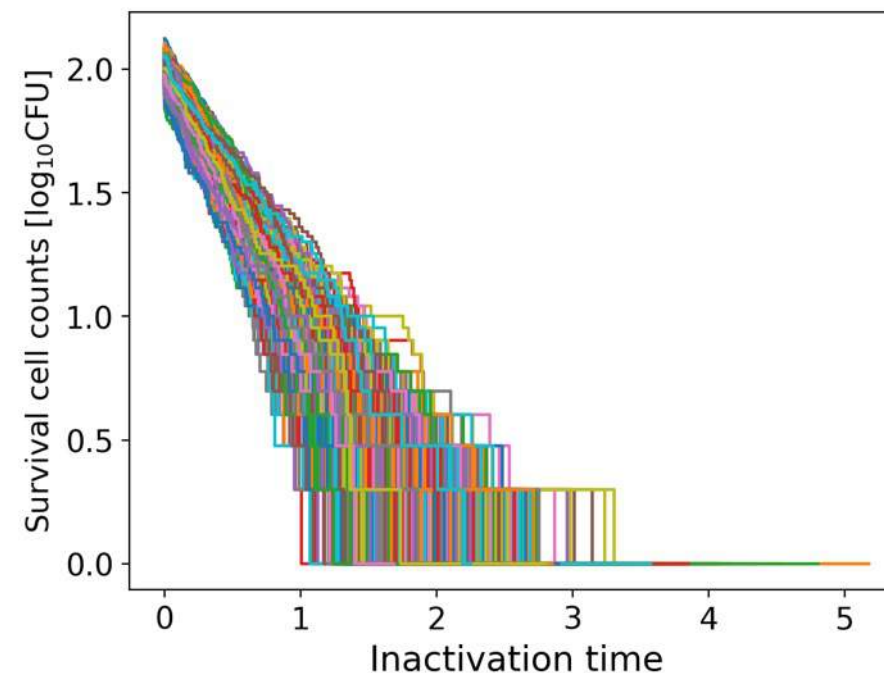
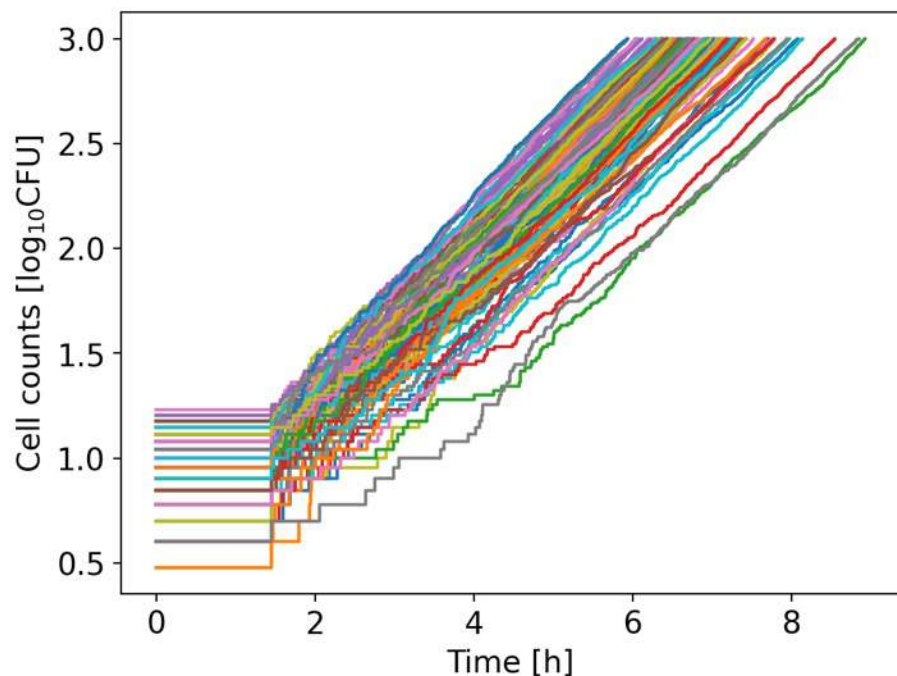


食品製造の工程管理における 微生物制御への予測微生物学の活用



北海道大学 大学院農学研究院
食品加工工学研究室
こせき しげのぶ
小関 成樹

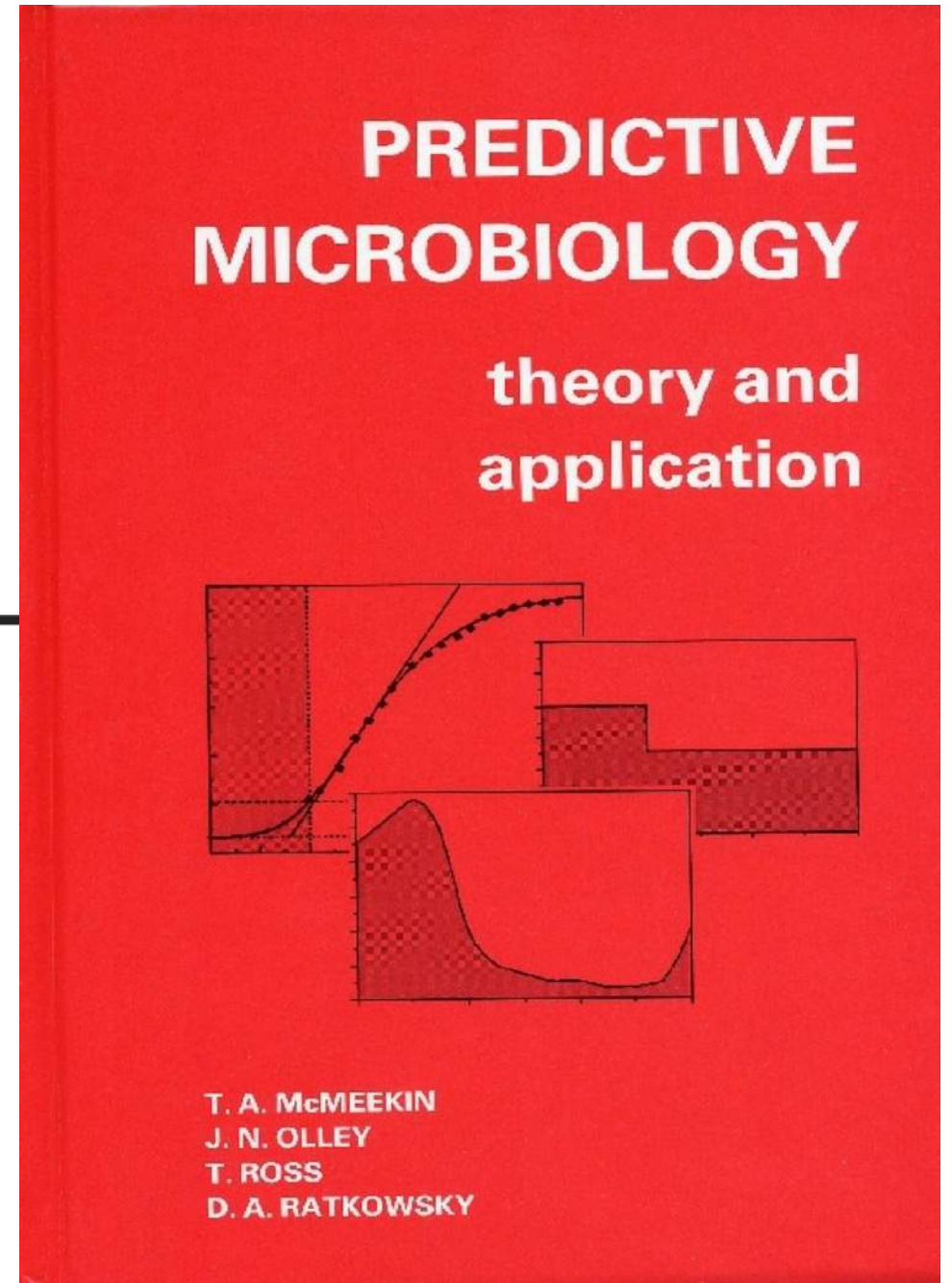


本日のお話し

1. 予測微生物学とはなにか (5分)
2. 予測モデルの活用 (10分)
3. 増殖／非増殖境界モデル (10分)
4. 細菌挙動のバラつきを評価 (7分)
5. データマイニングによる予測 (8分)

1. 予測微生物学の紹介

いったい何を予測するのか？

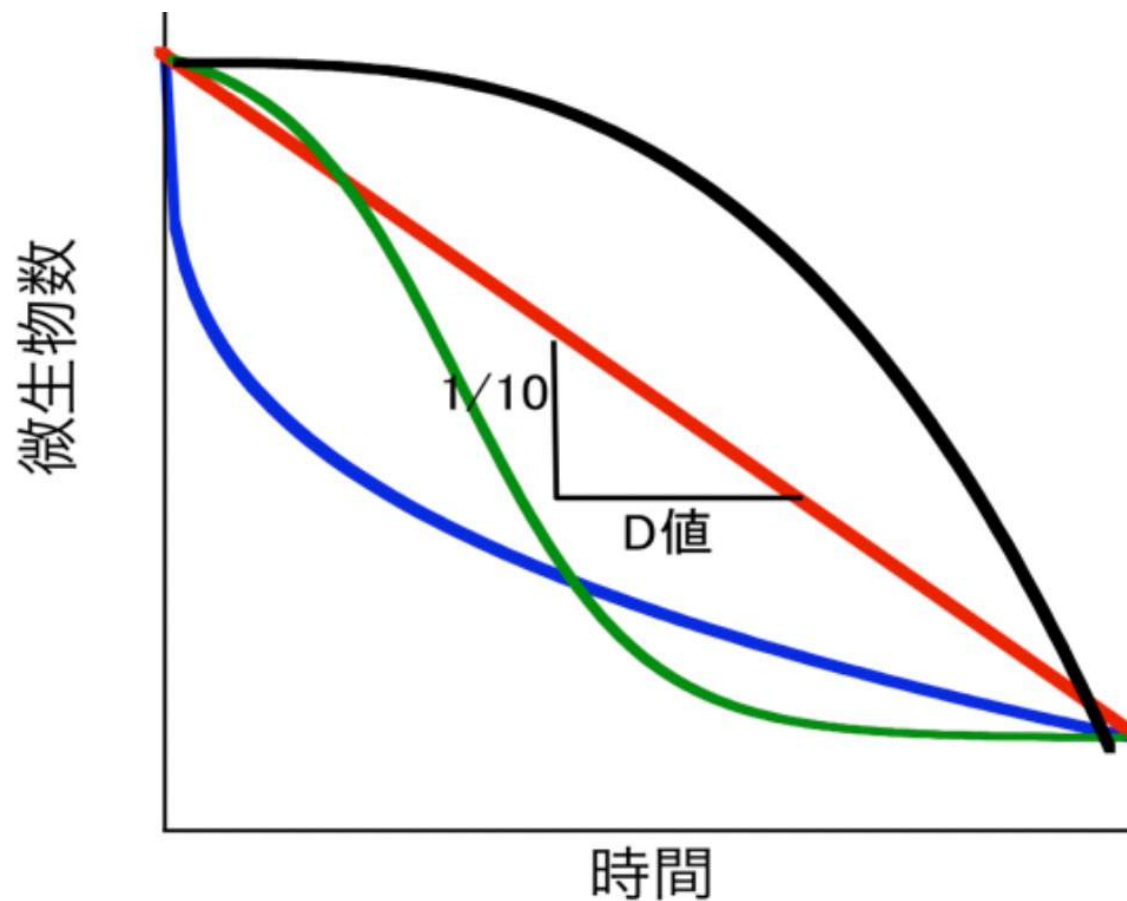
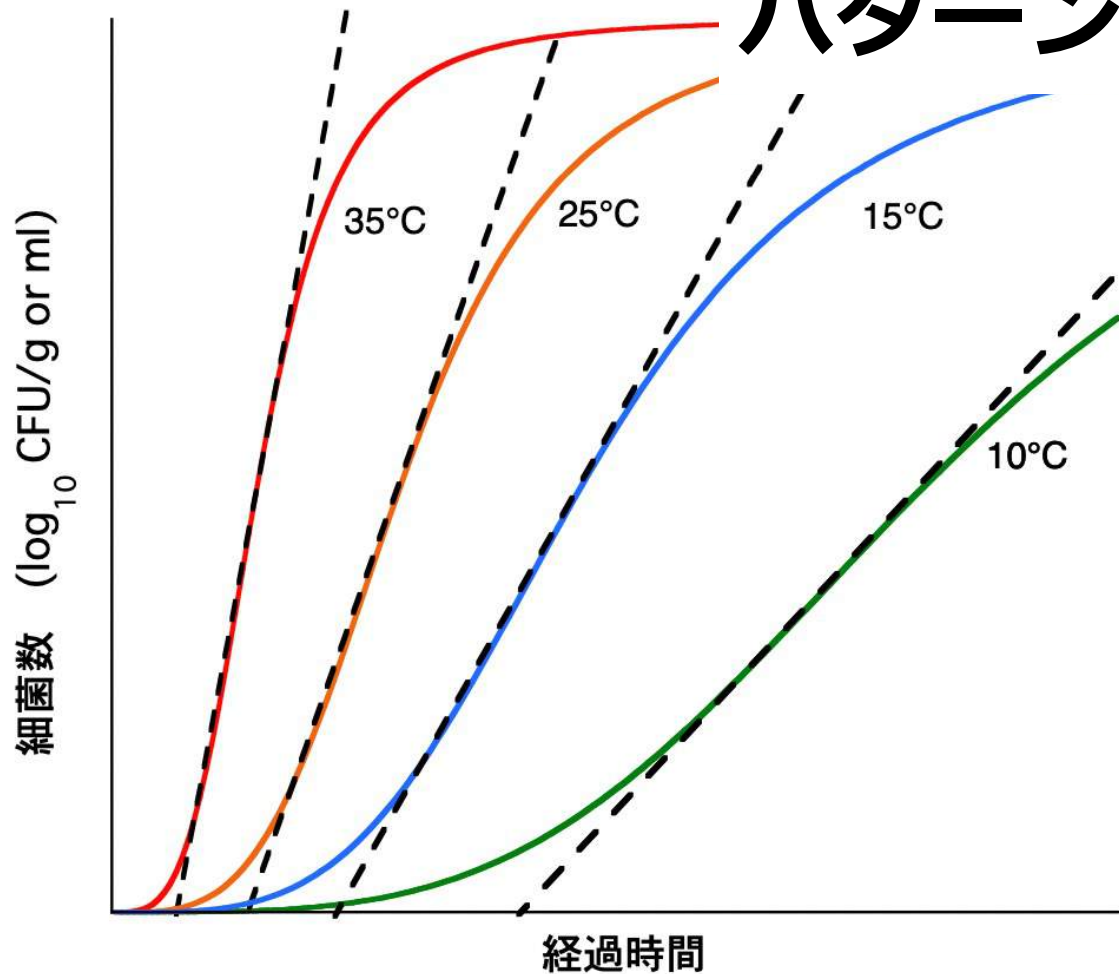


Predict the number



パターン化している 微生物数の増える/減る

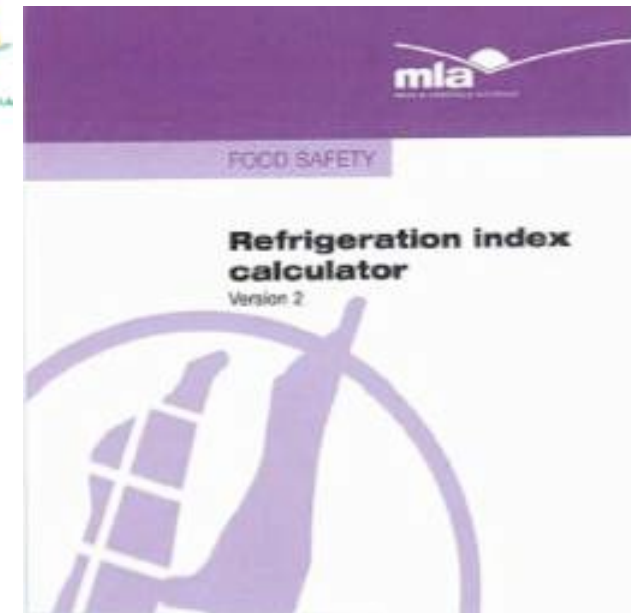
パターン化→数式化







Predictive microbiology in meat industry



Export Control (Meat and Meat Products) Orders 2005

<http://www.comlaw.gov.au/Details/F2011C00797>

Welcome to the

Refrigeration Index Calculator

Version 2.0.1036.13001



Paste temperature data here:

	A
13	23.7
14	22.3
15	20.9
16	19.8
17	18.8
18	17.7
19	16.7
20	15.6
21	15.4
22	13.5
23	12.8
24	11.7
25	10.6
26	9.9
27	8.6
28	8
29	6.9
30	6.2
31	5.4
32	4.6
33	

Select the product type:

- Carcase
- Boxed Trim
- Primal where the slowest cooling point is lean
- Primal where the slowest cooling point is fat OR a mixture OR you're not sure
- Offal
- Recovered meat products

The starting temperature is hot (as for initial cooling of a carcass):

- Yes
- No

Specify other parameters and information:

Temperature measurement interval: minDate of data collection:

Description of product, processing conditions, etc.:

Previous

Next

Close

Welcome to the

Refrigeration Index Calculator

Version 2.0.1896.18891

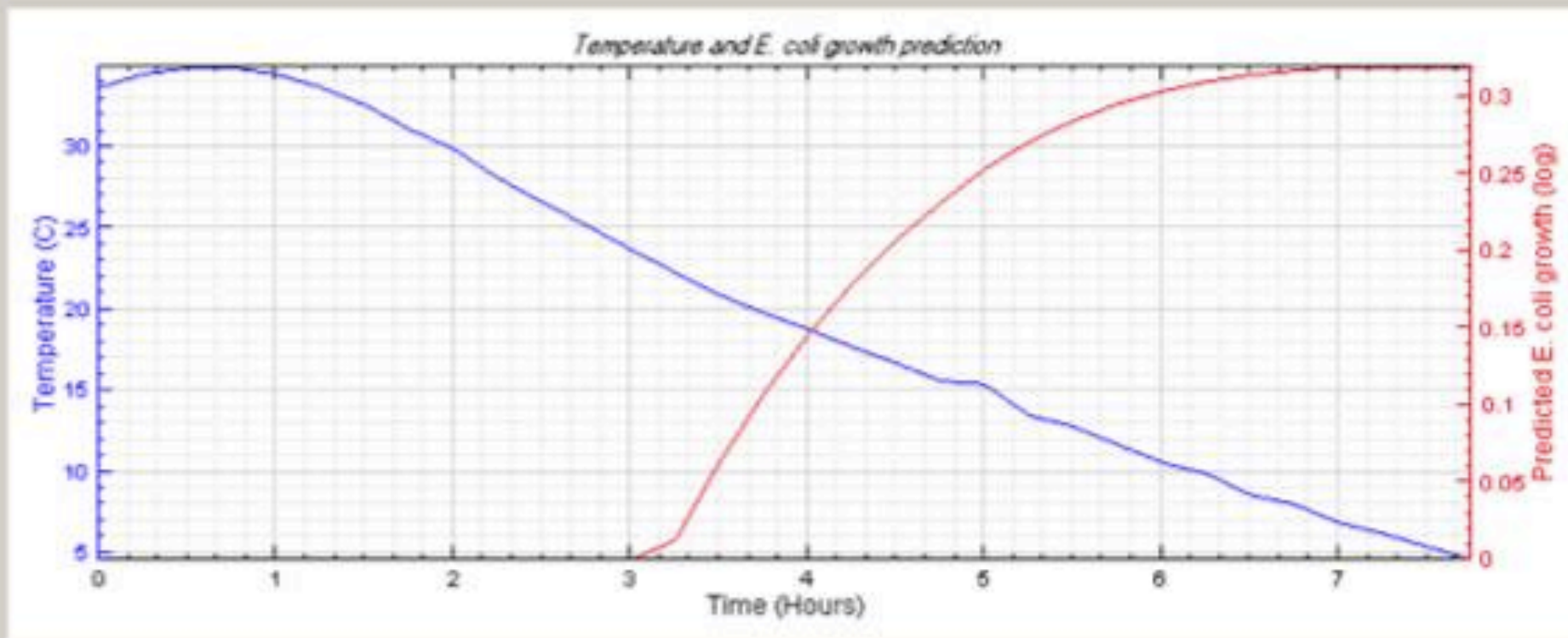
The refrigeration index is: **0.32**

Description:

Date of data collection: 15/03/2005

Type of product: Primal (lean)

Lag phase utilized: Yes



Save

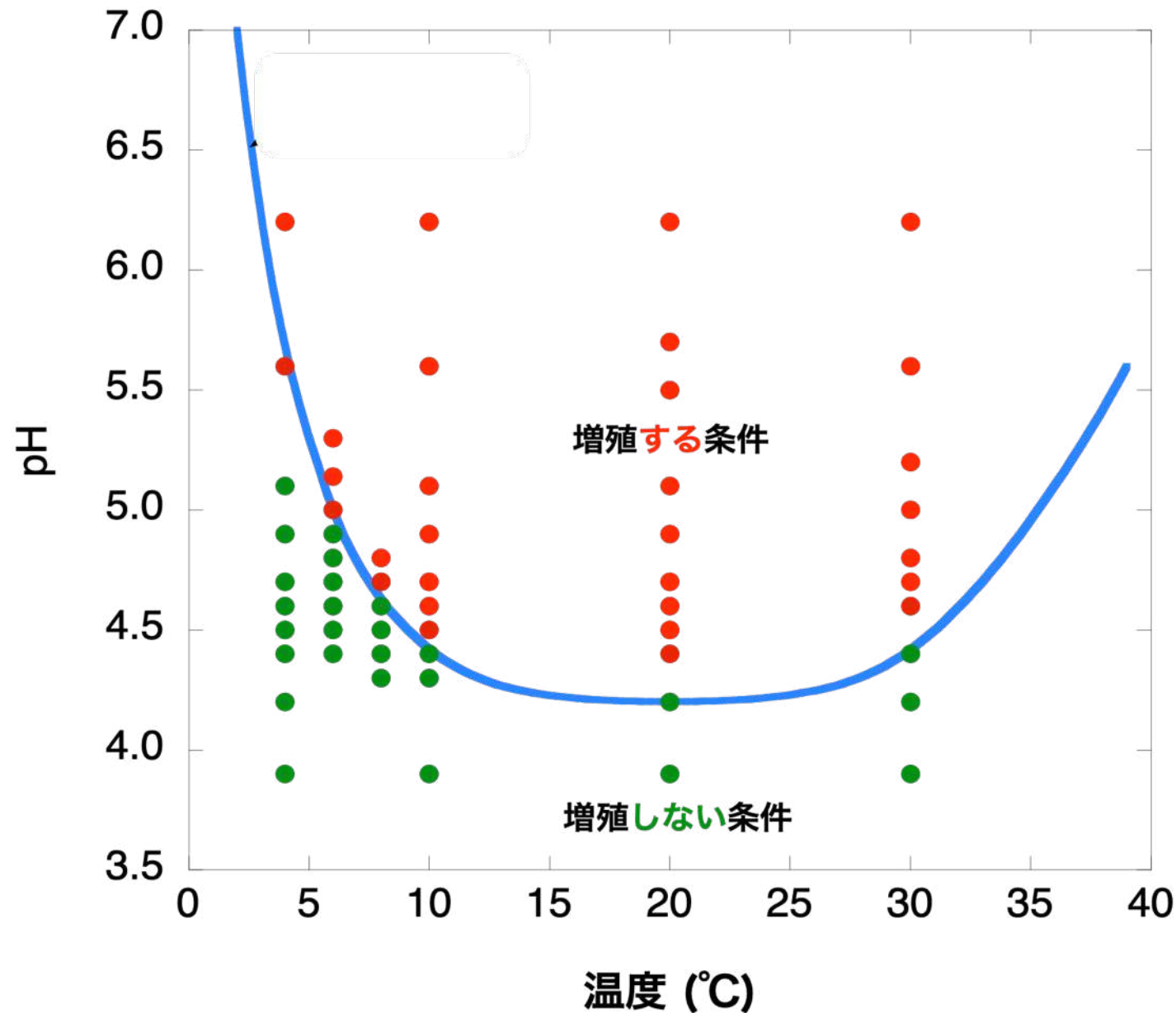
Print

Previous

Finish

Close

細菌の増殖を止めるための条件は？



**Predict the probability
growth/no growth, survival/death, etc.**



2. 予測モデルの活用

製造・流通条件の論理的な設定根拠を示す！



何を根拠に

製造加工、流通条件決めますか？

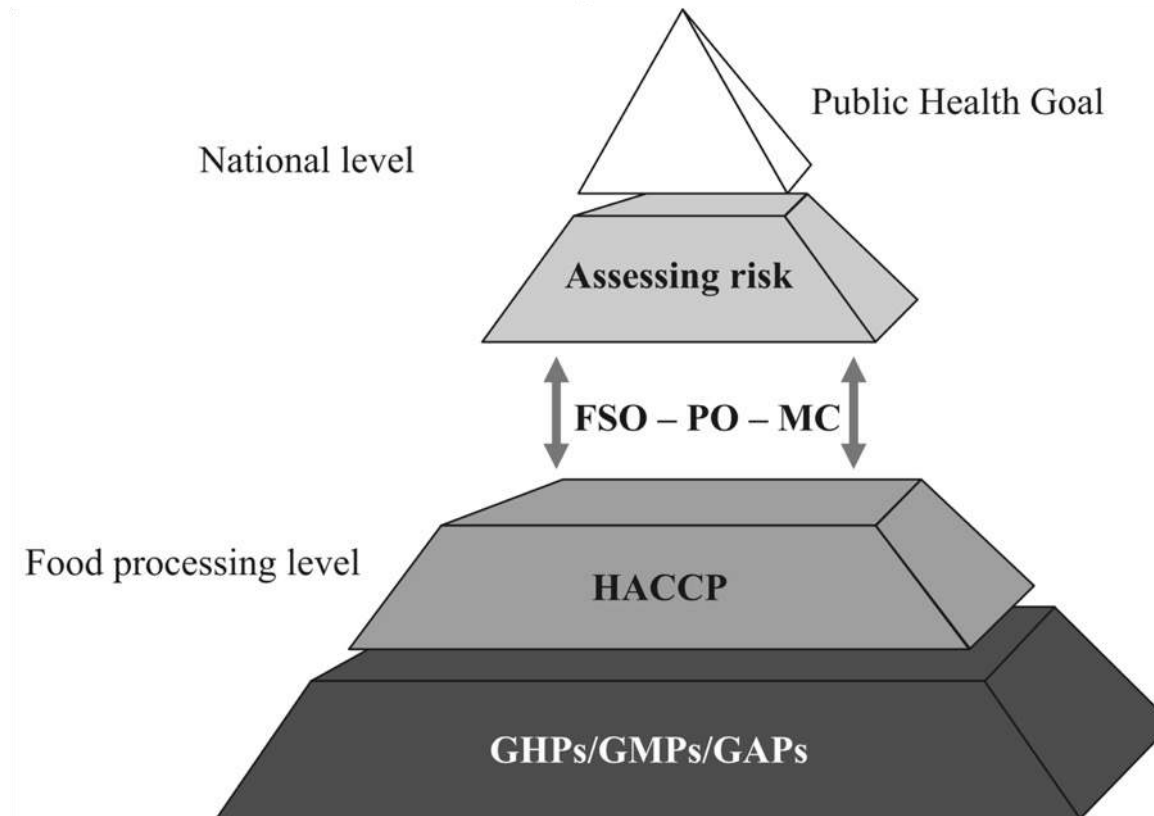
Food Safety Systems

食品の安全性確保のためのシステム

GHP (Good Hygiene Practice)

&

HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Point)



Cited from ICFSM

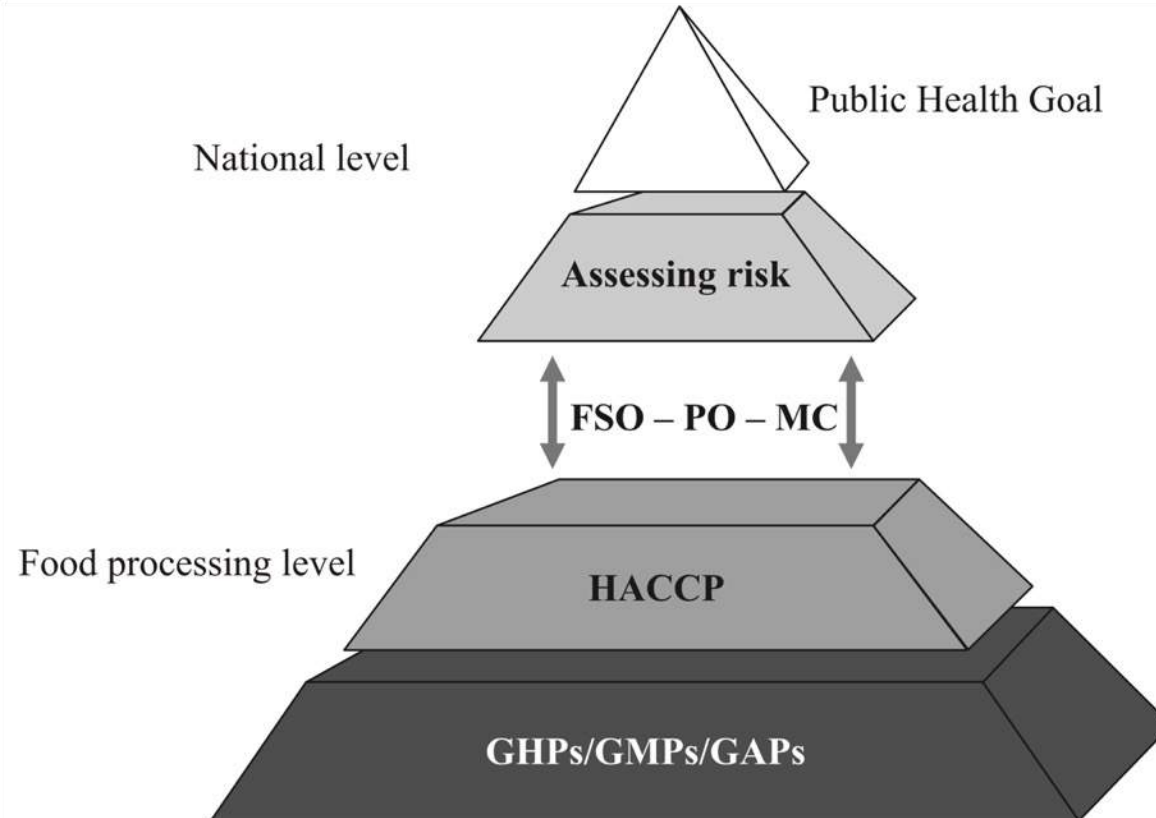
<https://www.icmsf.org/publications/guide/>

GHP (Good Hygiene Practice)

適正衛生規範

一般衛生管理プログラム

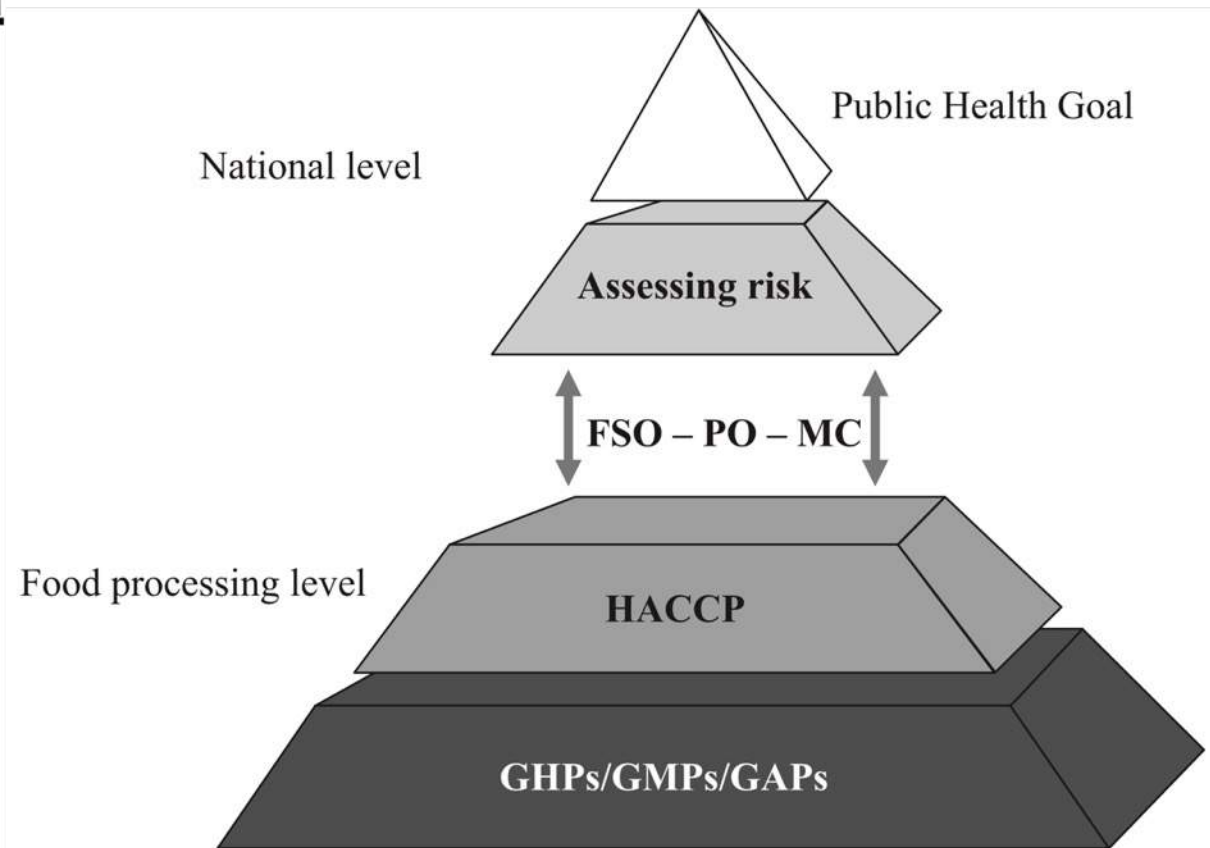
適切な衛生状態で食品製造が行うために必要な、
日常の整理，整頓，清掃，清潔を確実に実行すること。



Appropriate level of protection (ALOP)

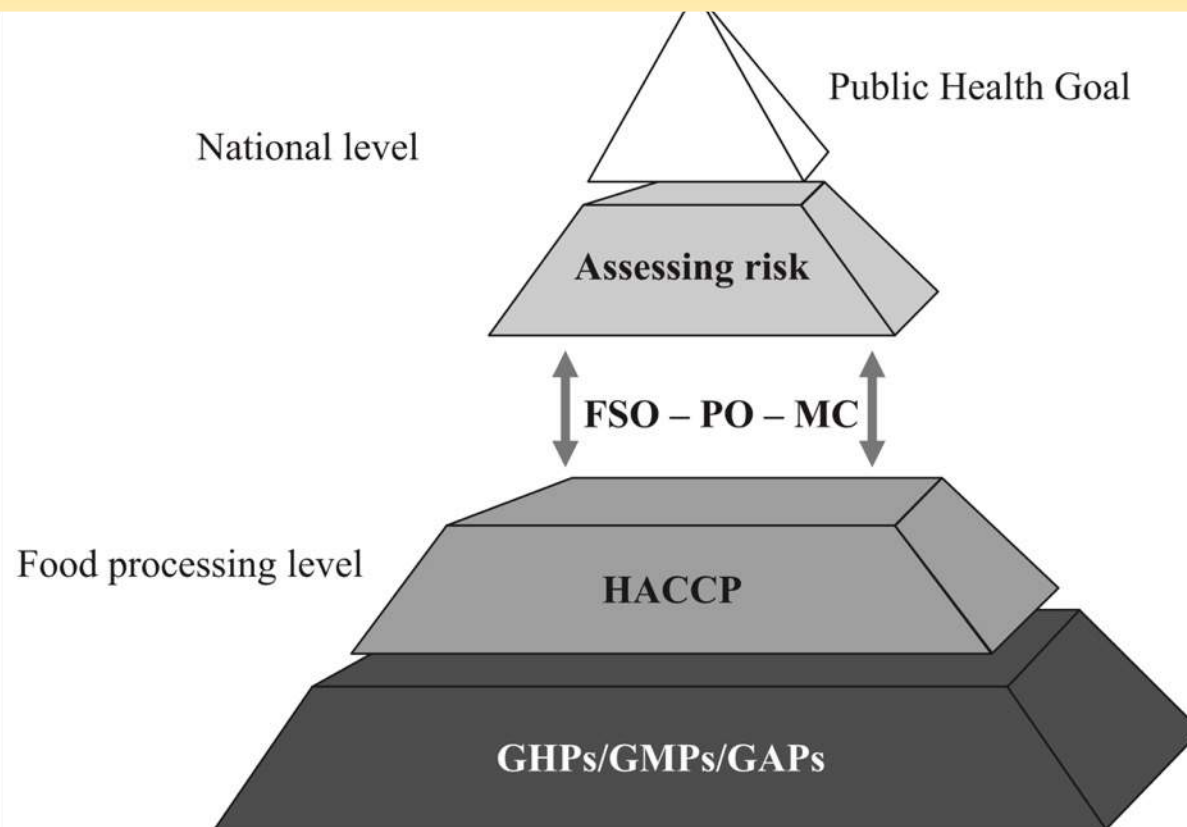
One of the concepts introduced by WTO and SPS agreement

例) *E. coli* O157:H7 による被害者を年間100万人あたり1人に抑える, といったリスク評価結果から導き出される公衆衛生上の目標値



Appropriate level of protection (ALOP)

この概念を食品製造現場に適用するなら、
例) 製品100万個あたりに不良品を1個以下に抑える



ALOPは発症患者数の目標を示すが 食品製造過程における具体的措置と繋がらない！

HACCP

However, HACCP is plant/factory-specific and does not directly link the effectiveness of such measures to an expected level of health protection (e.g., a reduction in the number of foodborne illnesses occurring in a country).



ALOP

Number of foodborne illnesses

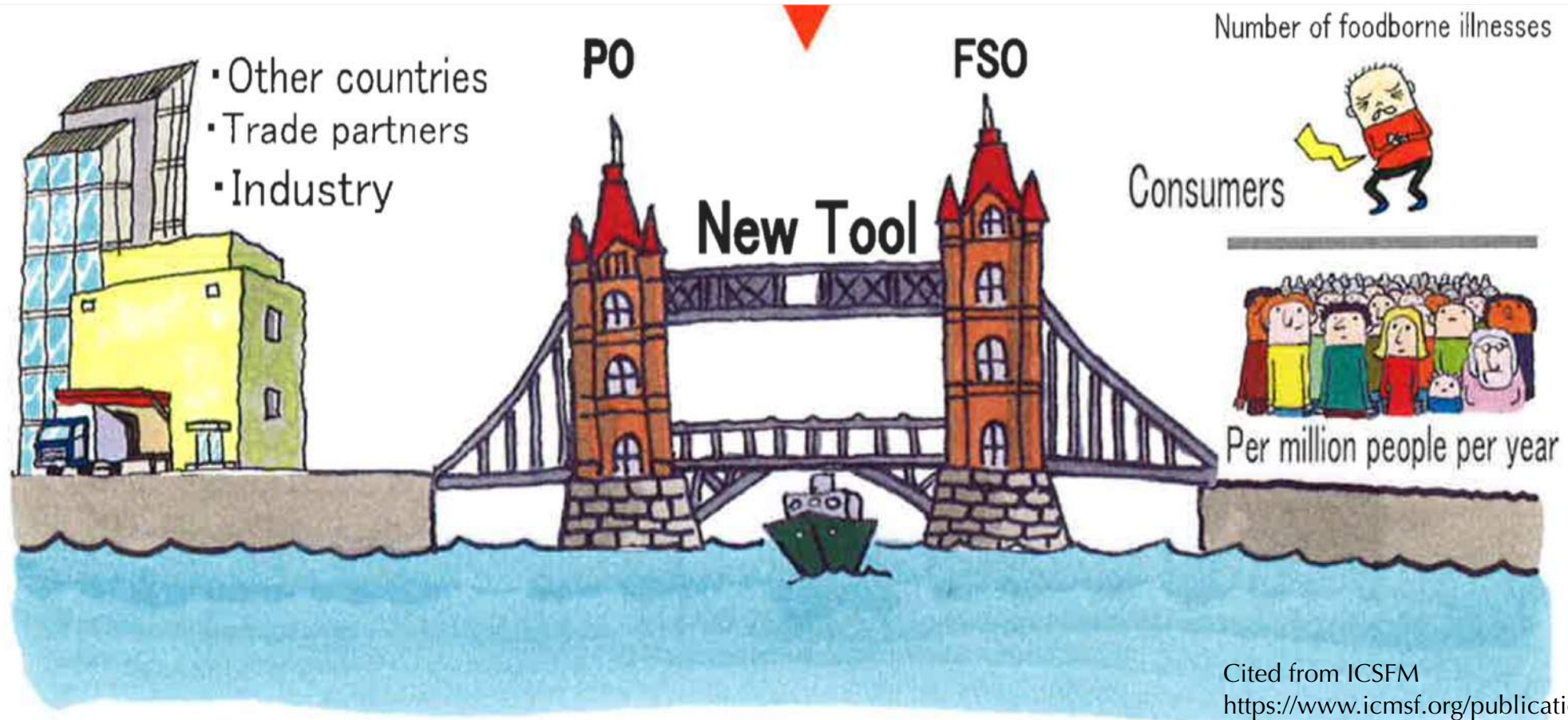


Per million people per year

Cited from ICSFM
<https://www.icmsf.org/publications/guide/>

New metrics:

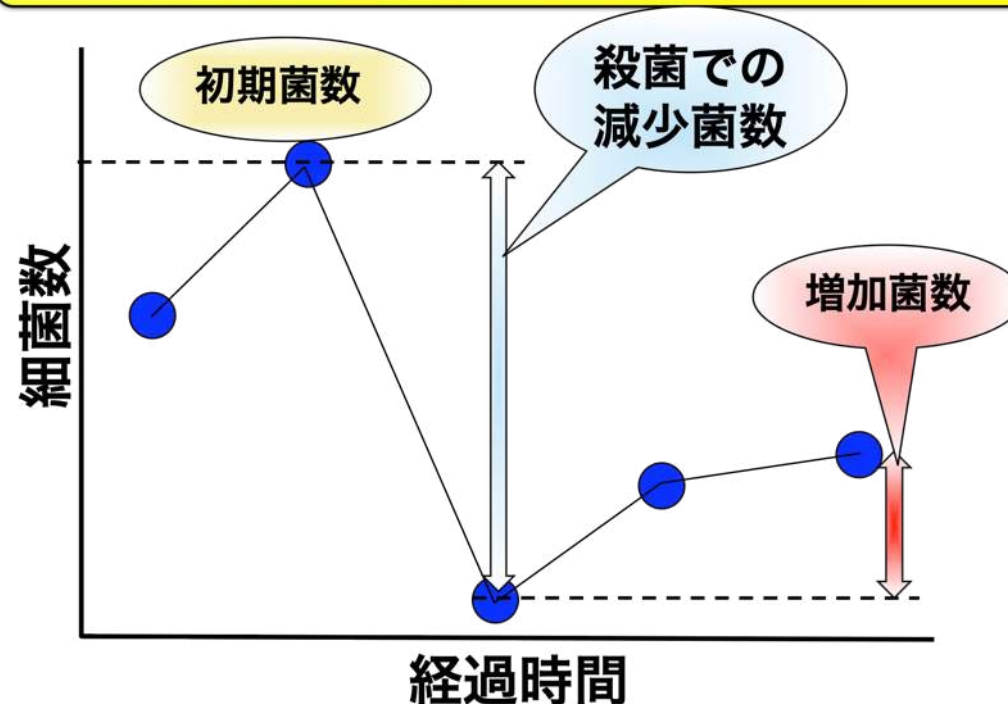
Food Safety Objective (FSO) & Performance objective (PO)



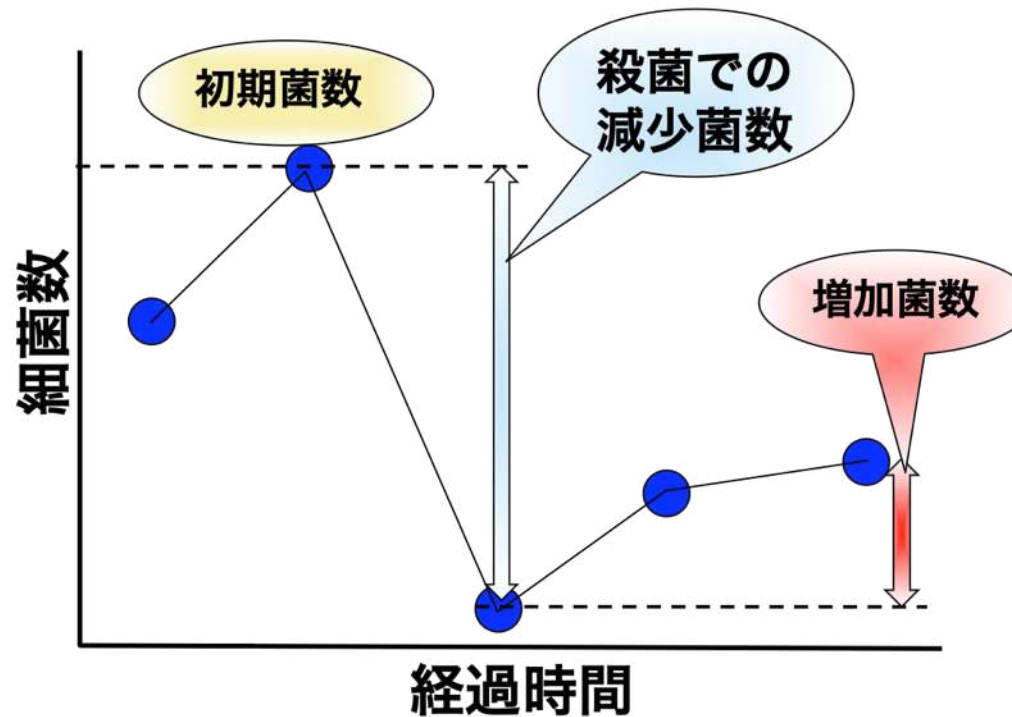
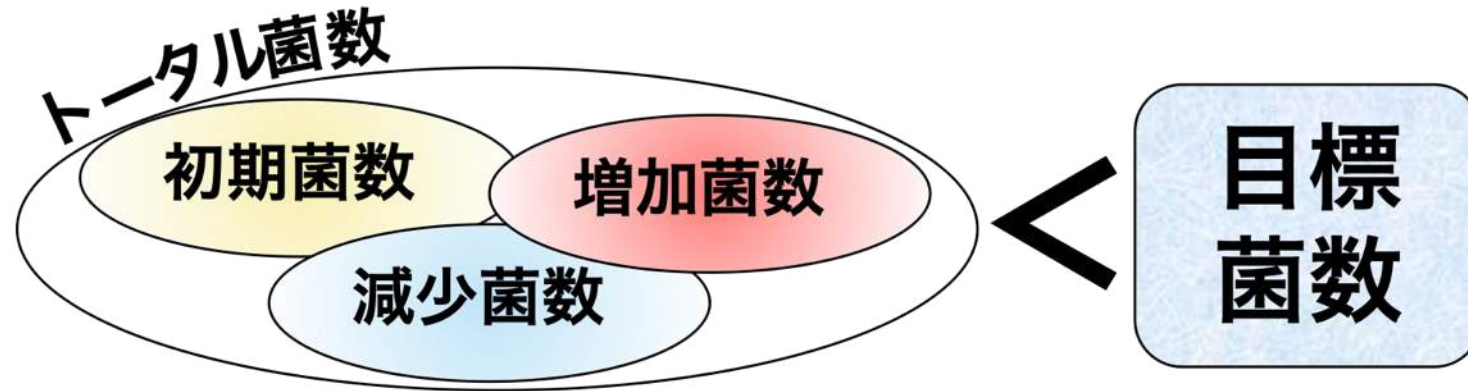
What is Food Safety Objective?

The maximum frequency and/or concentration of a hazard in a food at the time of consumption that provides or contributes to the appropriate level of protection (ALOP).

実際に食べる時の菌数をターゲットに！



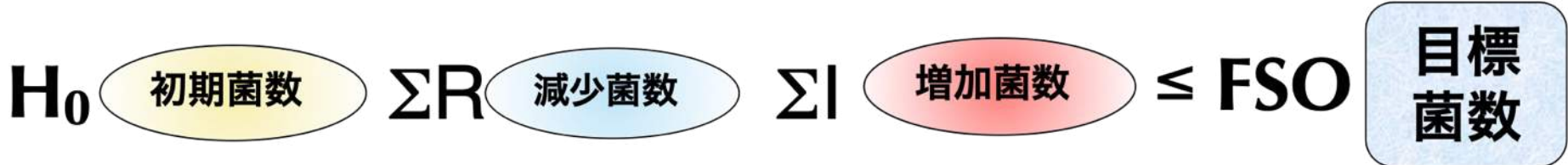
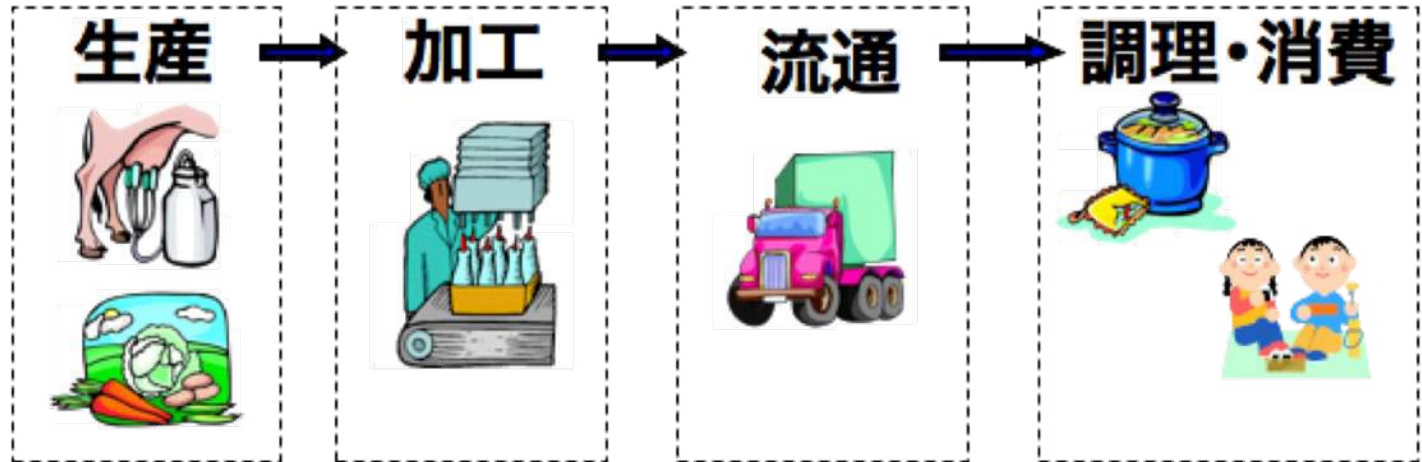
安全性確保のためのイメージ



Food Safety Objective (FSO) に基づく 安全性確保のためのイメージ by ICMSF and Codex



$$H_0 - \sum R + \sum I \leq FSO$$



食品関係での菌数の取扱いは通常
 \log_{10} を使う (桁が注目対象)

重要なポイント

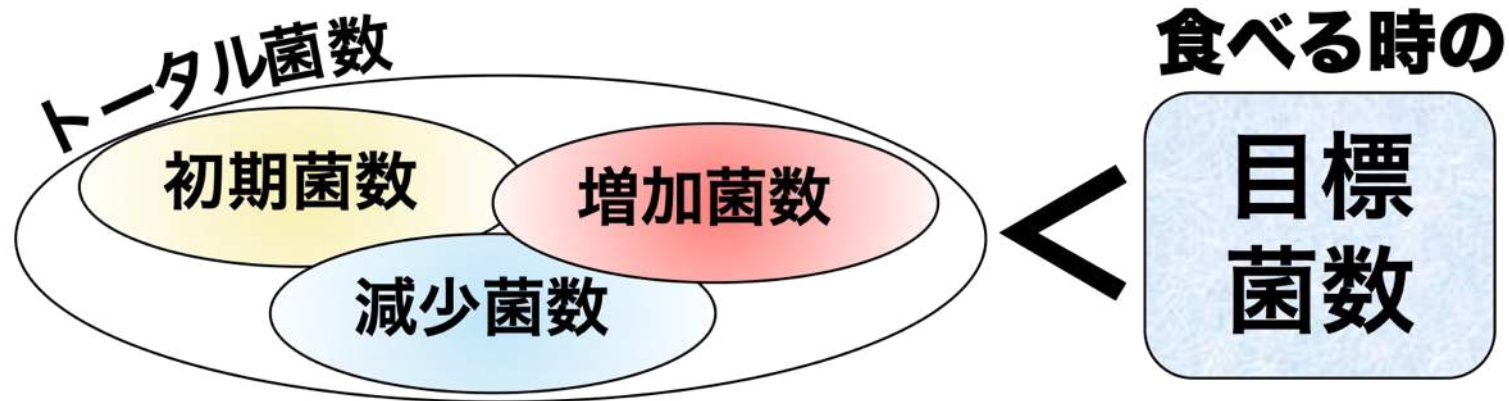
微生物数の桁数の変化を把握する
生産～加工（殺菌）～流通を考慮

管理制御可能なのは何だ？

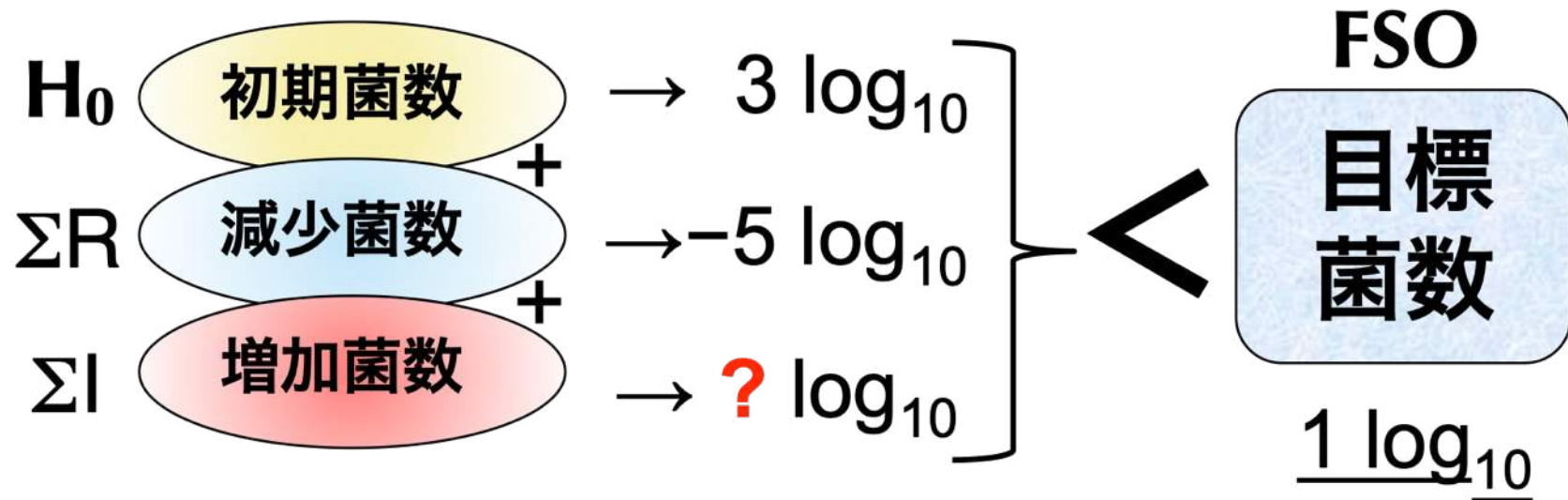
初期菌数：調達先の限定（契約栽培等）で安定化
しかし，積極的に制御できるものではない

減少菌数：殺菌強度は品質との兼合いで制御可能

増加菌数：消費期限に応じた制御可能



☆消費期限を決める例題☆



$$\begin{array}{ccccccc} H_0 & \Sigma R & \Sigma I & & \text{FSO} & & \\ 3 & -5 & + ? & < & 1 & & \\ & & ? & < & 3 & & \end{array}$$

つまり、増殖は3桁の増加に抑える
流通条件・日数が必要

細菌数増殖の基本式

$$\frac{dN}{dt} = \mu_{\max} N$$

N は菌数,
 μ_{\max} は最大比増殖速度 (1/h)

$$\frac{1}{N} dN = \mu_{\max} dt$$

$$\int \frac{1}{N} dN = \int \mu_{\max} dt$$

$$\log(N) = \mu_{\max} t + A$$

ここで, A は積分定数

$$\log(N) = \mu_{\max} t + A$$

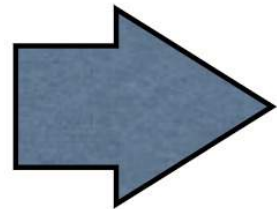
$t=0$ の時, $N=N_0$ とすると, $\log(N_0) = A$

$$\log(N) = \mu_{\max} t + \log(N_0)$$

$$\log(N) - \log(N_0) = \mu_{\max} t$$

$$\log \frac{N}{N_0} = \mu_{\max} t$$

$$\frac{N}{N_0} = \exp(\mu_{\max} t)$$



$$N = N_0 \exp(\mu_{\max} t)$$

培地系での検索

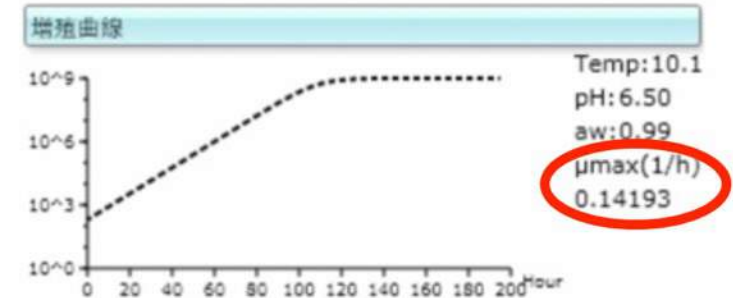
製品のpHとawと

想定される保存・流通温度の情報から調べる。

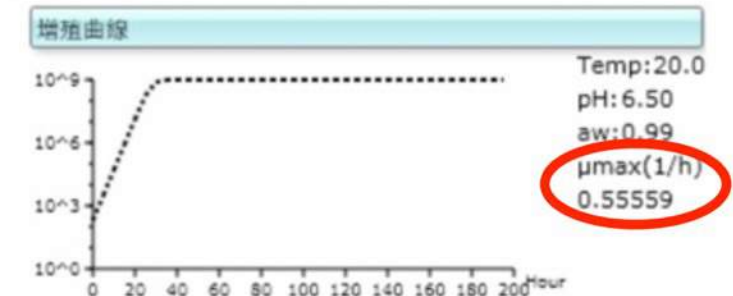
例) *B. cereus* の増殖

pH=6.5, $a_w=0.99$

@10°C



@20°C



今、初発菌数を 10^1 個と仮定して、
3桁増加の 10^4 個に達するまでの時間を計算する

$$N = N_0 \exp(\mu_{\max} t) \quad \Leftarrow N_0 = 10^1, N = 10^4$$

@10°C (冷蔵) の時 $\mu_{\max} = 0.142$

$$\cancel{10^4} = \cancel{10^1} \times \exp(0.142 \times t)$$

$$10^3 = \exp(0.142 \times t) \quad \Leftarrow \text{両辺の対数をとる}$$

$$\log(10^3) = 0.142 \times t$$

$$t = \log(10^3) / 0.142 \quad t = 48.6 \quad \rightarrow 48 \text{時間かかる}$$

今、初発菌数を 10^1 個と仮定して、
3桁増加の 10^4 個に達するまでの時間を計算する

$$N = N_0 \exp(\mu_{\max} t) \quad \Leftarrow N_0 = 10^1, N = 10^4$$

温度の影響を検討してみる

@20°C (冷蔵) の時 $\mu_{\max} = 0.556$

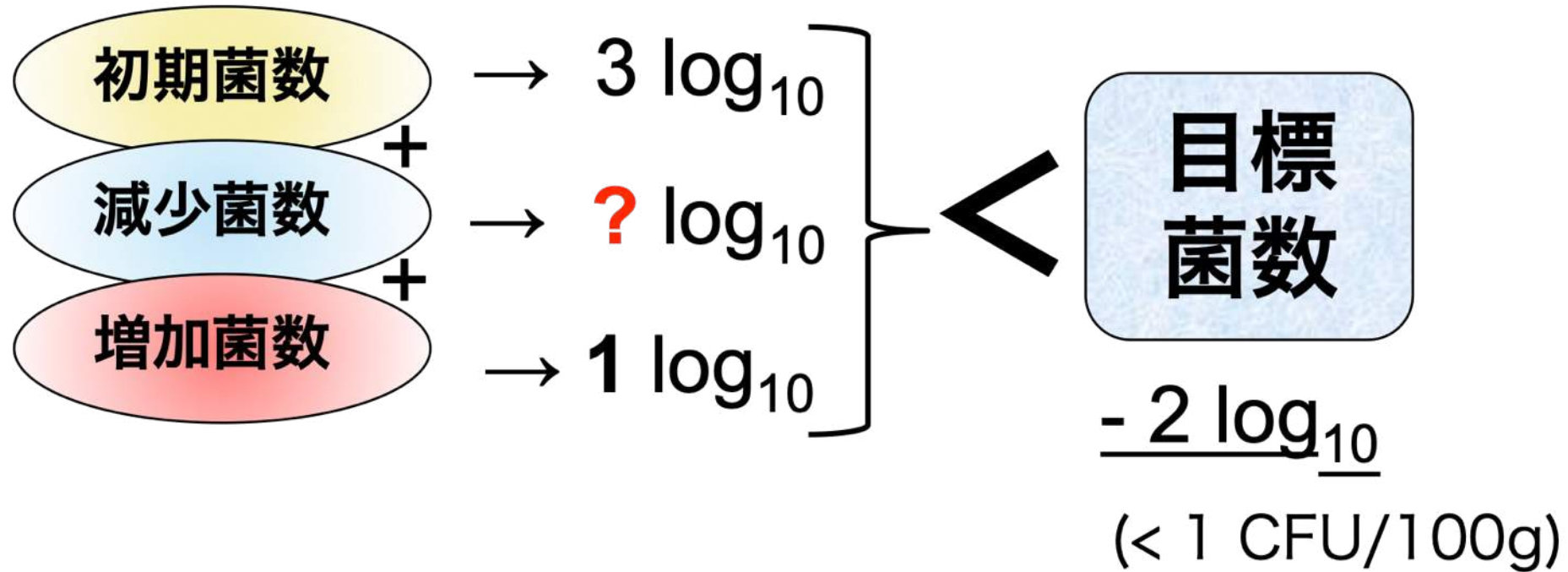
$$\cancel{10^4} = \cancel{10^1} \times \exp(0.556 \times t)$$

$$10^3 = \exp(0.556 \times t) \quad \Leftarrow \text{両辺の対数をとる}$$

$$\log(10^3) = 0.556 \times t$$

$$t = \log(10^3) / 0.556 \quad t = 12.4 \quad \rightarrow 12 \text{時間かかる}$$

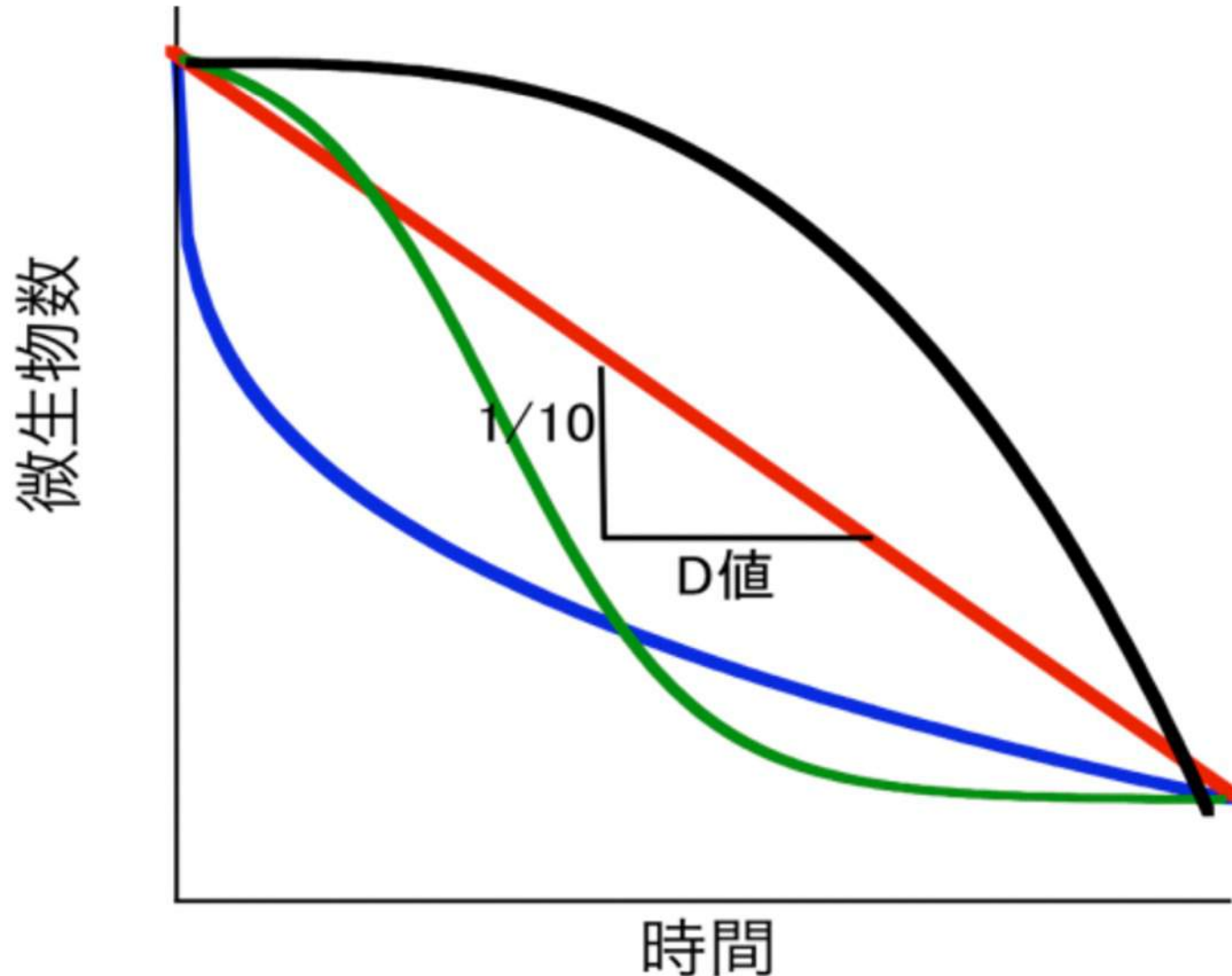
☆殺菌条件を決める例題☆



$$3 - ? + 1 < -2$$
$$? > 6$$

つまり、殺菌は6桁の低下を満たす
処理強度・条件が必要

6桁の殺菌効果を達成するには？



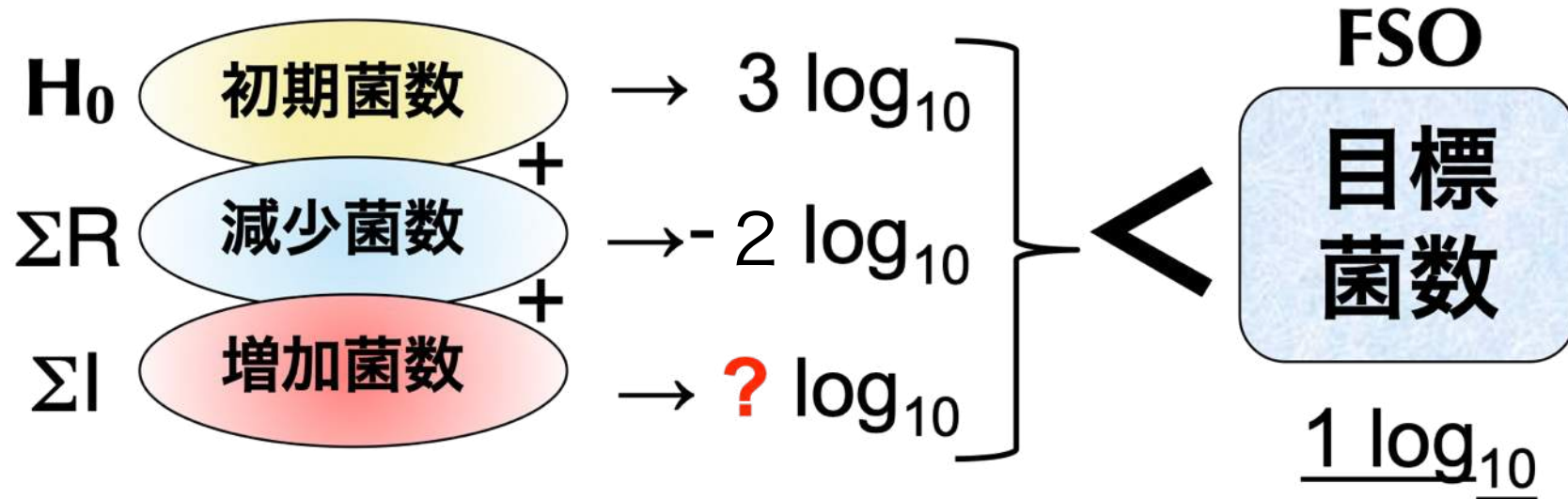
D値×6 で良い？

Shoulderの時は？

Tailingの時は？

Sigmoidの場合には？

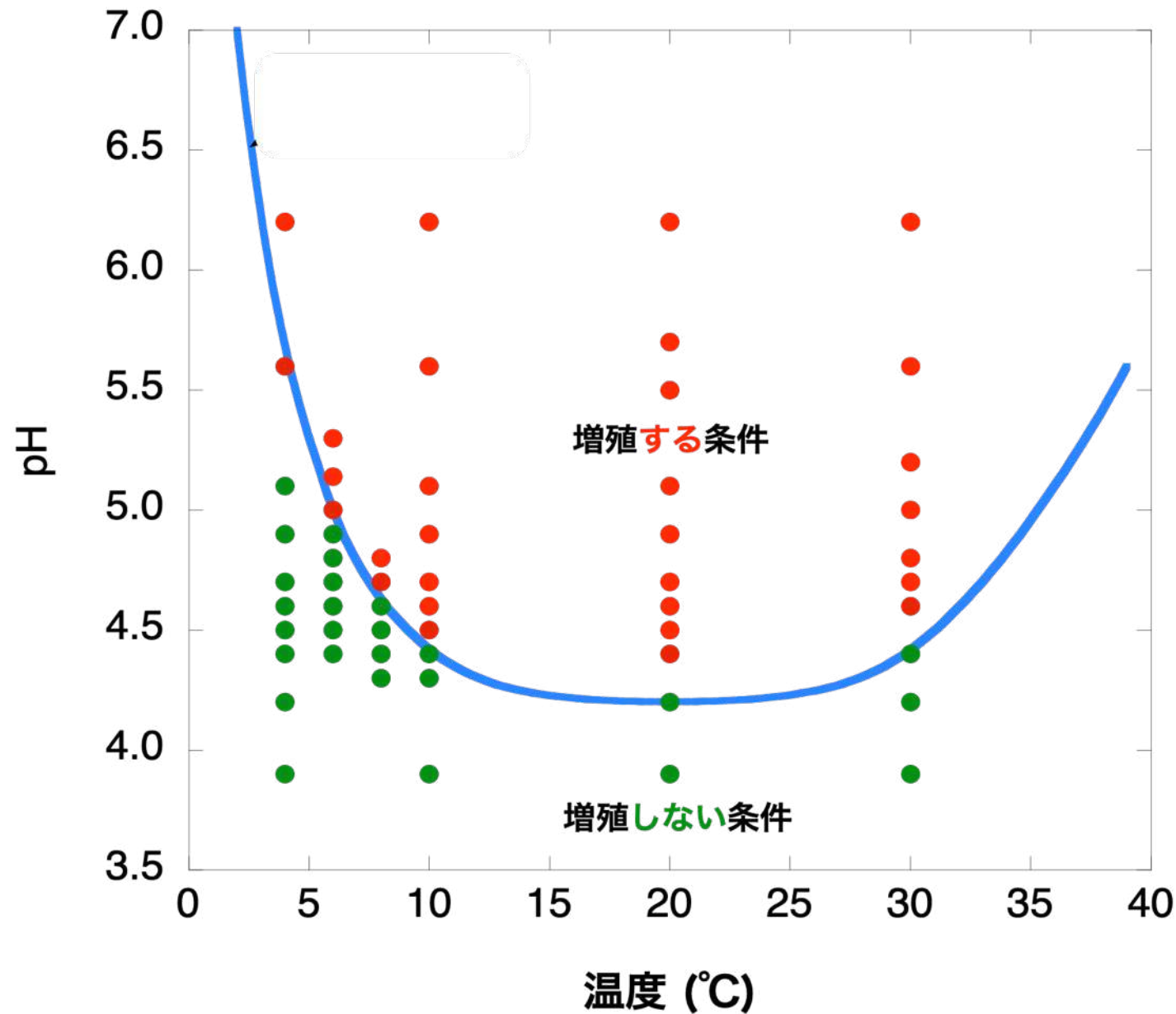
製造流通条件を決める例題



$$\begin{array}{ccccccc} H_0 & \Sigma R & \Sigma I & & \text{FSO} & & \\ 3 & -2 & + ? & < & 1 & & \\ & & ? < 0 & & & & \end{array}$$

つまり、**増殖をさせない条件**が必要

細菌の増殖を止めるための条件は？



何を根拠に
製造加工、流通条件決めますか？



**FSOを基にして、
増殖／死滅予測を活用から条件設定**

3. 増殖／非増殖境界モデル

細菌を増殖させないための条件を知る！

増殖／非増殖境界モデル

- ✓ どのくらいの確からしさで、増殖を抑えることができるのか？
- ✓ 処方変更に伴うリスク変動は？
- ✓ 許容限界（Critical limit）の設定は？

微生物の増殖を止める条件

温度

pH

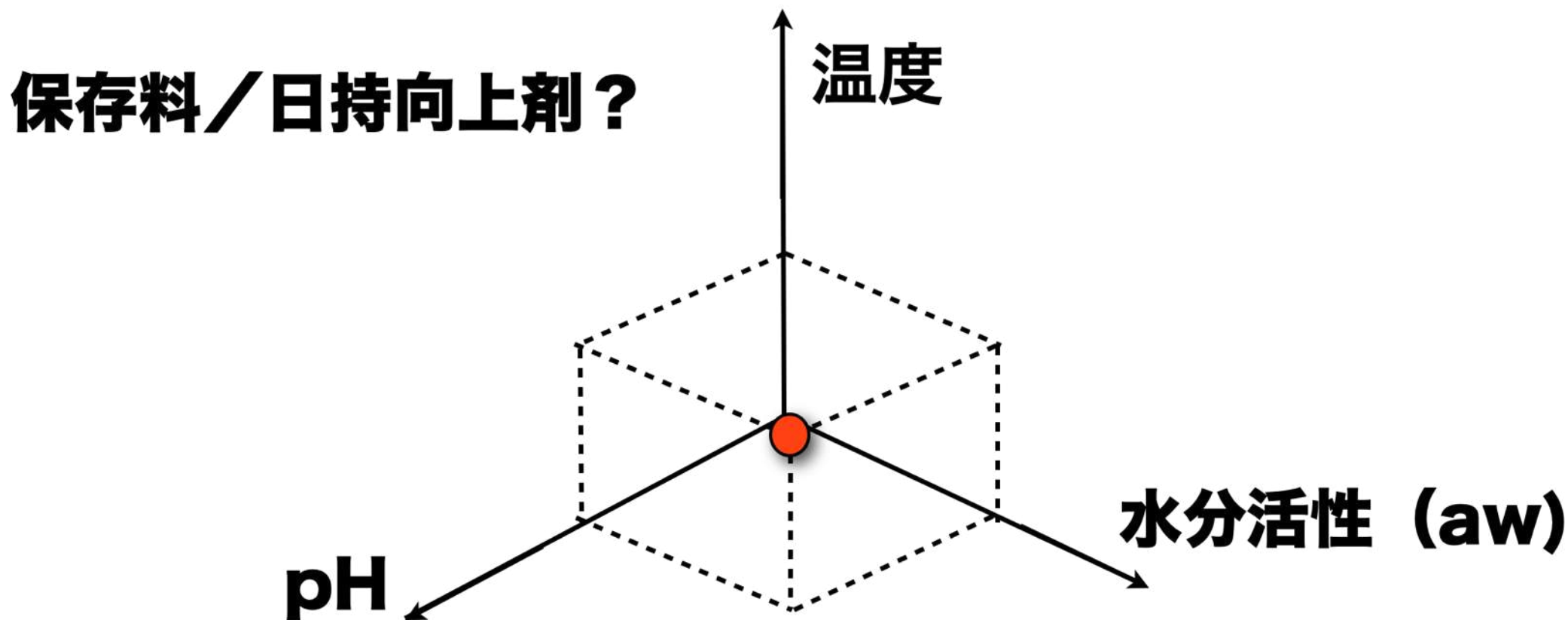
水分活性 (aw)

保存料 / 日持向上剤



”単独 / 組合せによって止める”

微生物の増殖を止める条件 多次元空間の中の任意の点を決める

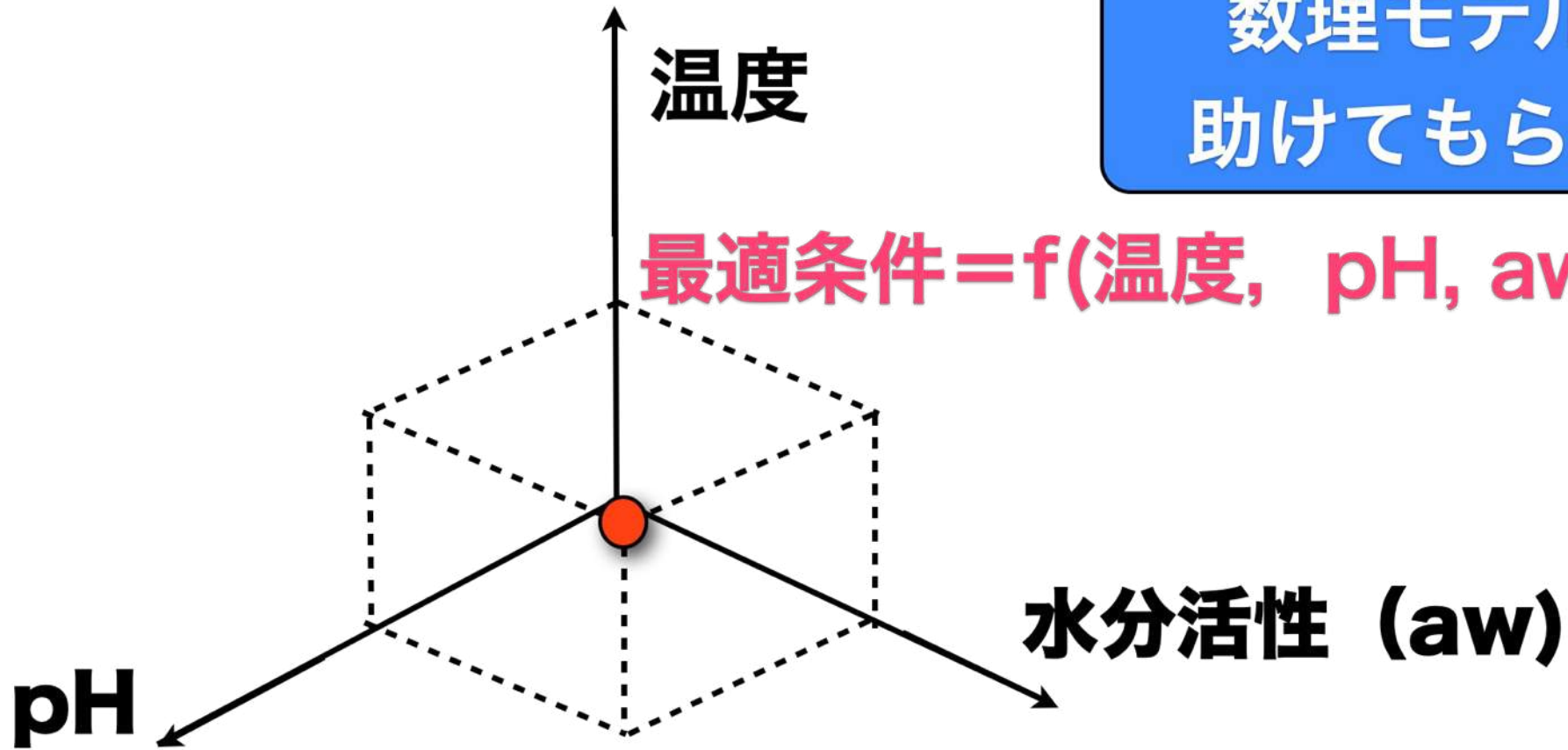


3次元までは図示できるが・・・

4次元, 5次元とパラメータが増えてくると理解困難

数理モデルに
助けてもらおう!

最適条件 = $f(\text{温度}, \text{pH}, \text{aw}, \text{保存料})$



よく見かけるデータ取得例 (○増殖する, ×増殖しない)

aw \ pH	4	5	6	7
1	○	○	○	○
0.99	×	○	○	○
0.98	×	×	○	○
0.97	×	×	×	○
0.96	×	×	×	×

よく見かけるデータ取得例 (○増殖する, ×増殖しない)

aw \ pH	4	5	6	7

人間にとっては分かりやすいかもしれないが、
このままの形だと、PCが計算できない

0.98	×	×	○	○
0.97	×	×	×	○
0.96	×	×	×	×

計算するためには (○増殖する, ×増殖しない)

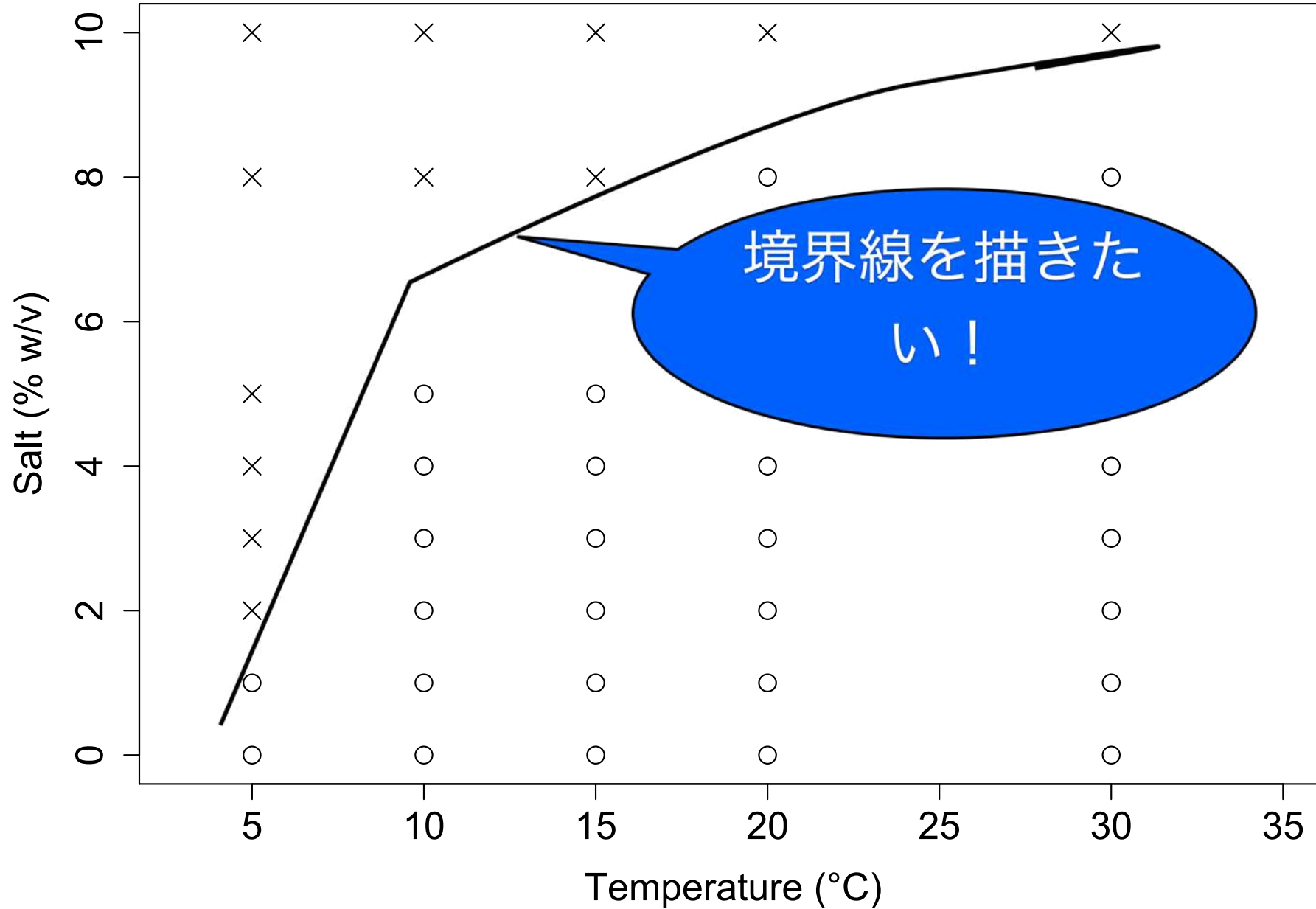
×	増殖しない	⇒	成功 (0)
○	増殖する	⇒	失敗 (1)

2値化 (0/1) する!

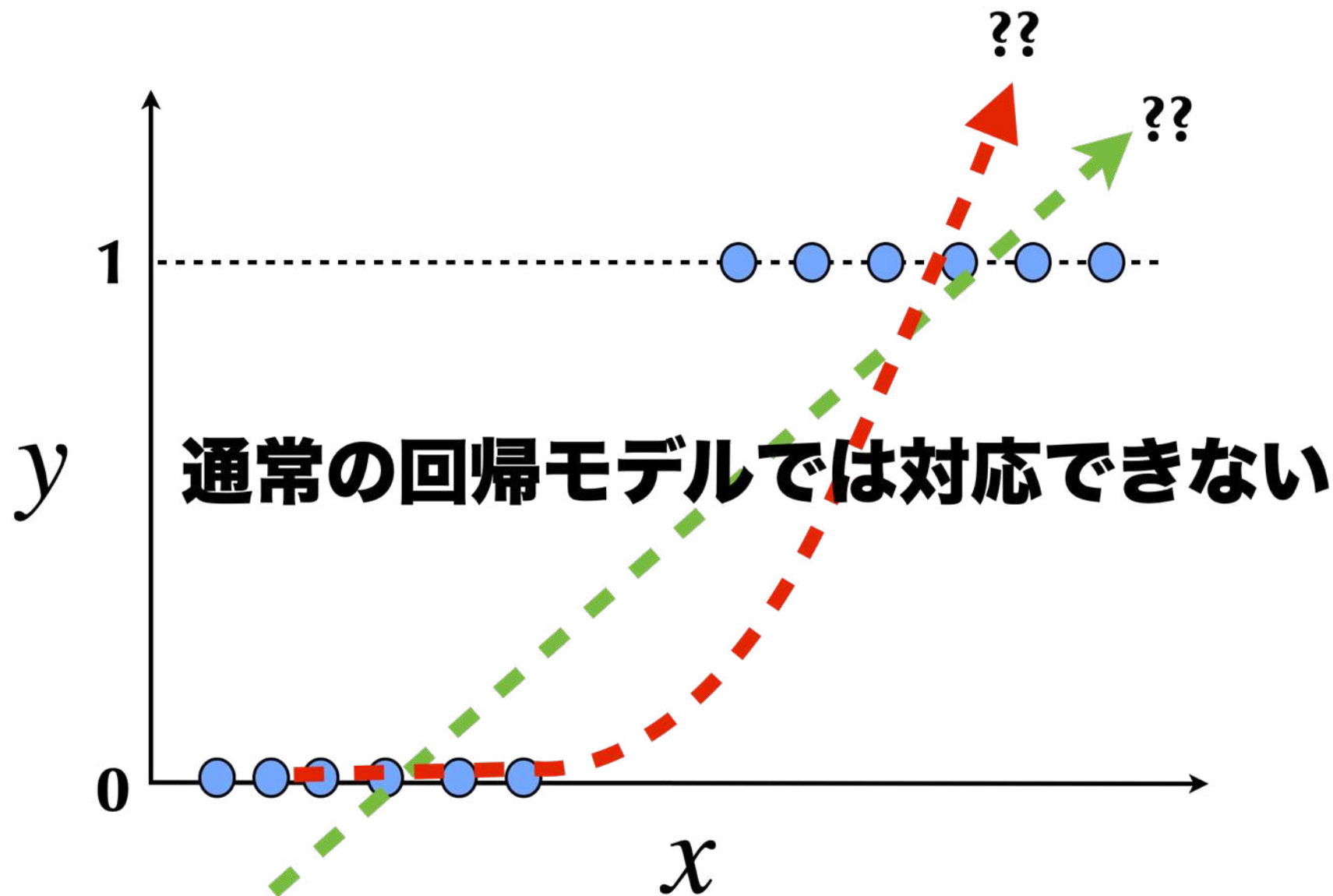
対象微生物の増殖が止まる条件の 組合せを探索する

使えるモデル開発には
網羅的なデータが必要不可欠！

増殖○／非増殖× データの例

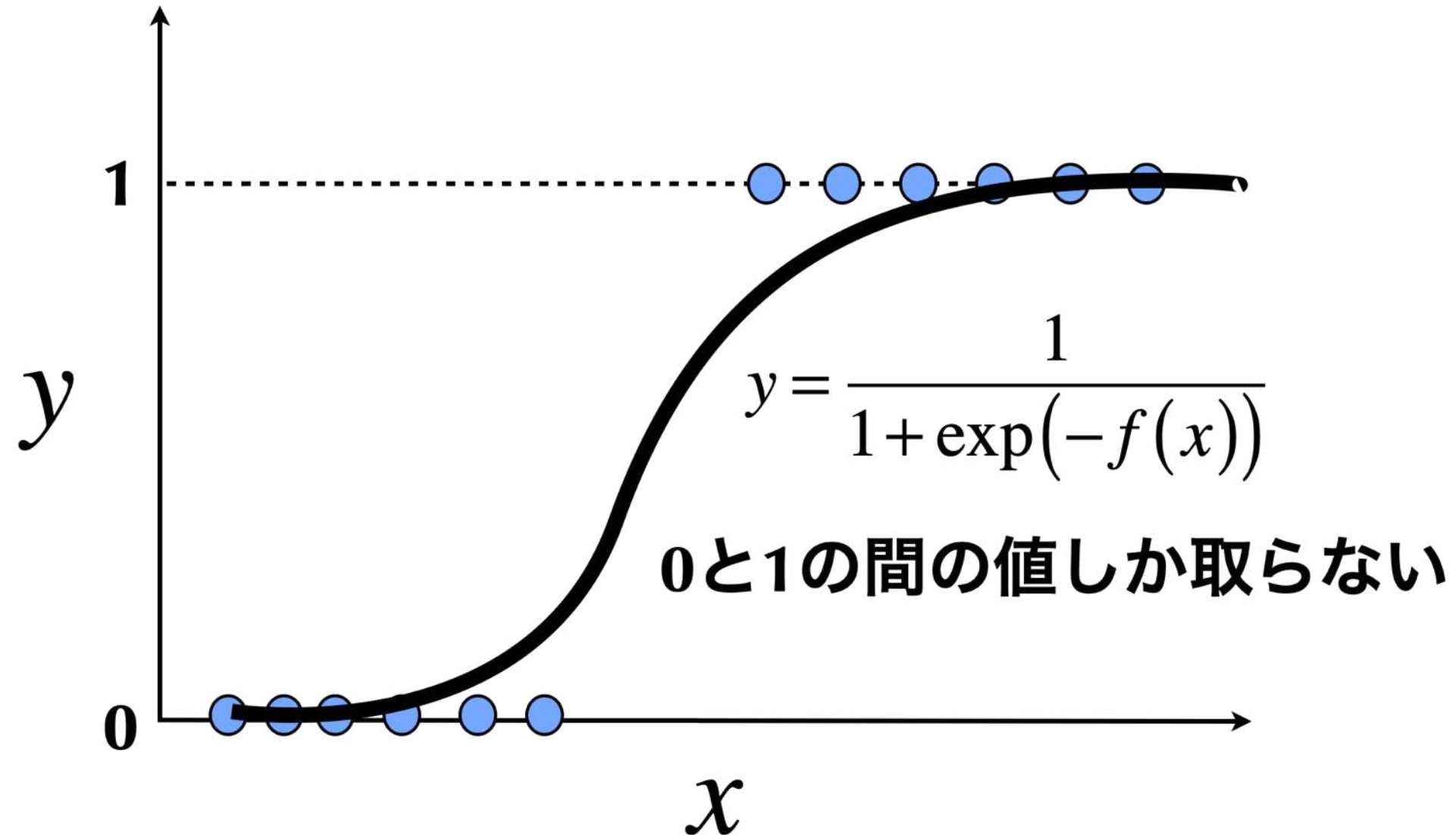


2値変数を説明するための数理モデル



2値変数を説明するための数理モデル

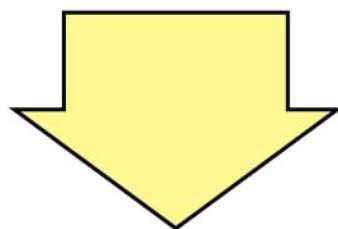
ロジスティック型の関数



ロジスティック回帰分析

成功／失敗といった2値データに対する多変量解析

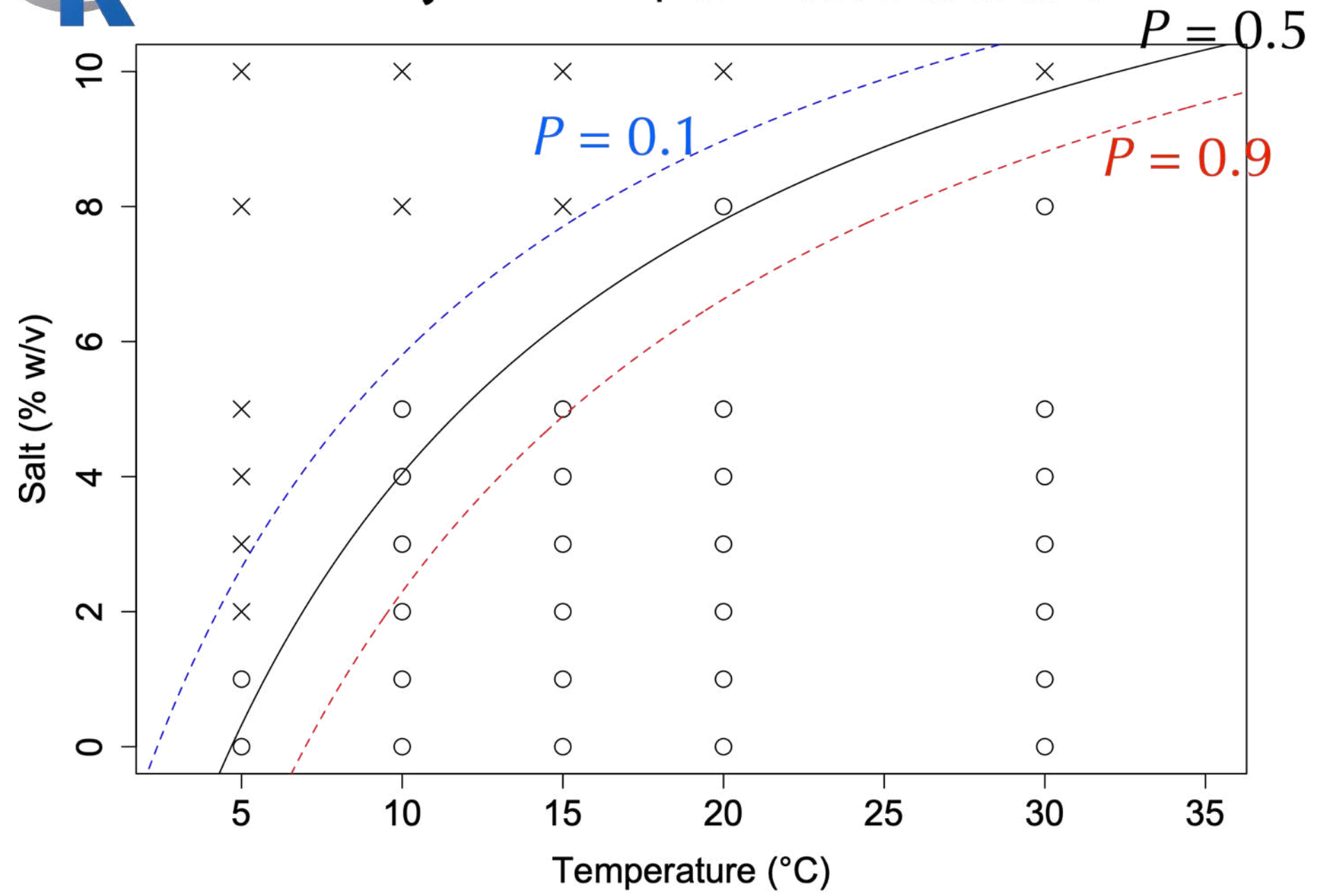
$$\log\left(\frac{P}{1-P}\right) = \text{Logit}(P) = \frac{a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 + a_4x_4 + \dots}{1}$$



$$P = \frac{1}{1 + \exp\left(-\left(a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 + a_4x_4\right)\right)}$$



P = 0.1, 0.9 の時の境界線描画



数理モデル化が難しい場合には 機械学習の手法を用いるのも一つの有効な手段！

Food Microbiology 78 (2019) 38–45

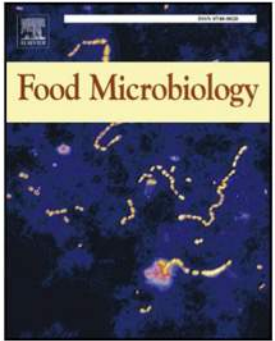


ELSEVIER

Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Food Microbiology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/fm



Modeling growth limits of *Bacillus* spp. spores by using deep-learning algorithm

Sayuri Kuroda^a, Haruko Okuda^b, Wataru Ishida^b, Shigenobu Koseki^{a,*}

^a Graduate School of Agricultural Science, Hokkaido University, Kita-9, Nishi-9, Kita-ku, Sapporo, 060-8589, Japan

^b Nisshin Seifun Group, Inc, Fujimino, Saitama, Japan



バラつきを考慮した**確実な**反復数としては10反復程度が必要！

Food Control 122 (2021) 107756



ELSEVIER

Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Food Control

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foodcont



How many repetitions per condition are required for developing a stable growth/no growth boundary model for *Bacillus simplex* spores?

Natsuki Tsuruma^a, Shinya Doto^a, Wataru Ishida^b, Kento Koyama^a, Shigenobu Koseki^{a,*}

^a Graduate School of Agricultural Science, Hokkaido University Kita-9, Nishi-9, Kita-ku, Sapporo, 060-8589, Japan

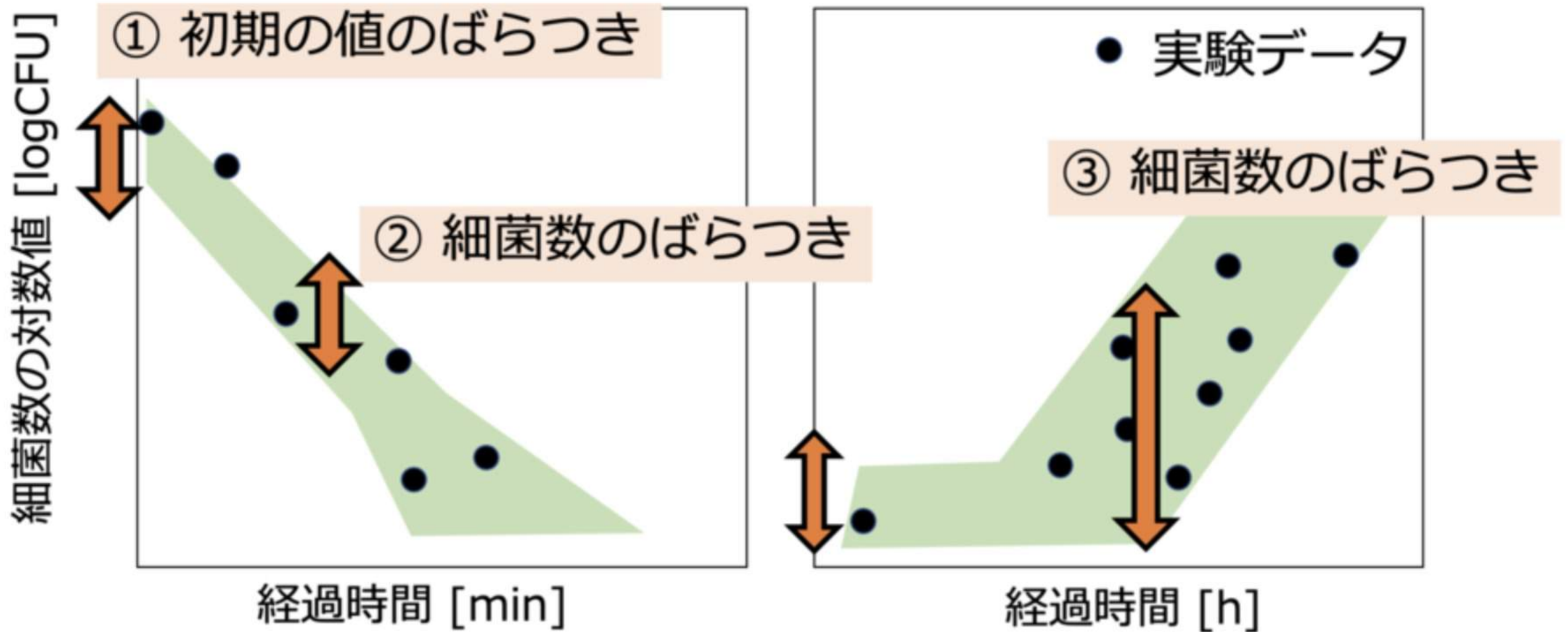
^b Nisshin Seifun Group, Inc., Fujimino, Saitama, 356-8511, Japan



4. 細菌挙動のバラつきを評価

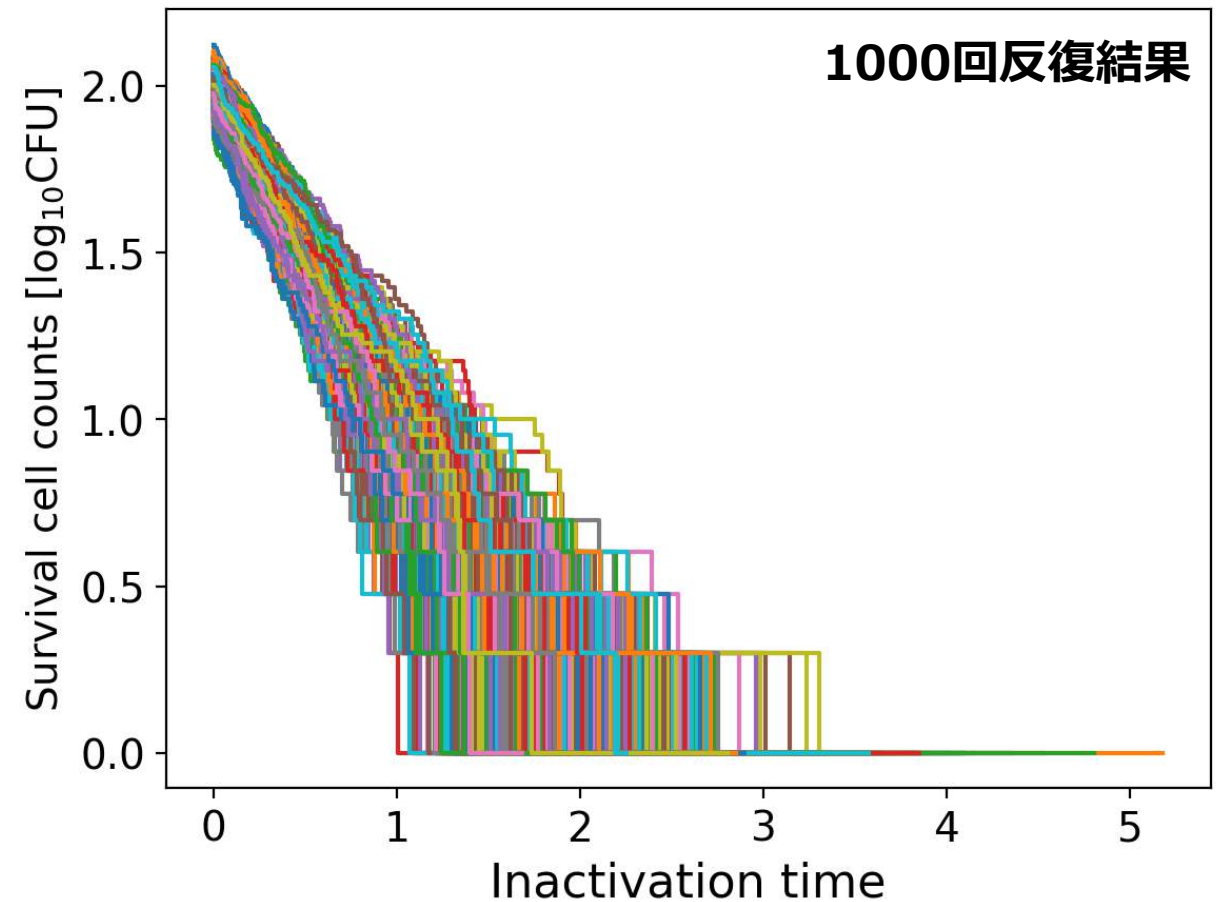
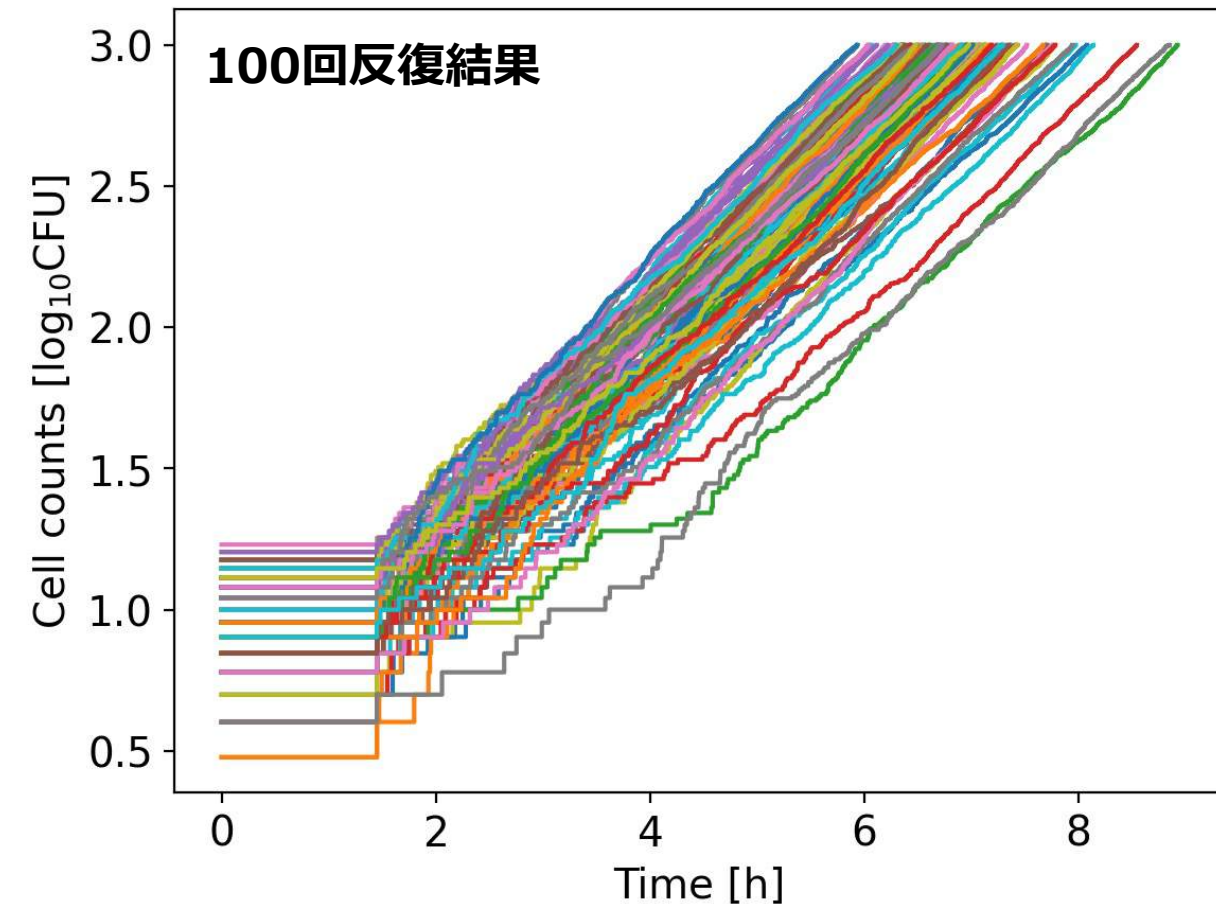
細菌検査のバラつき、どう評価解釈する？

細菌検査、寒天平板でのコロニーカウント結果、バラつきませんか？



細菌集団の挙動に見られるバラつきを可視化（シミュレーション）

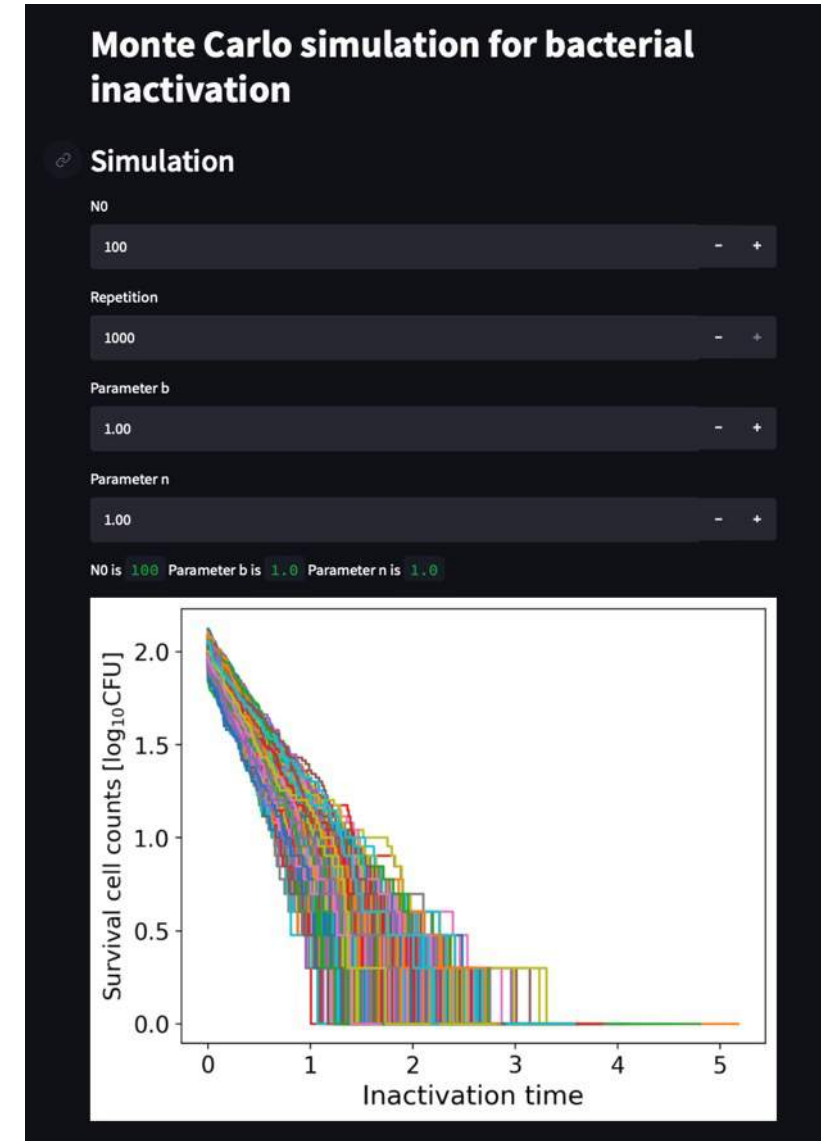
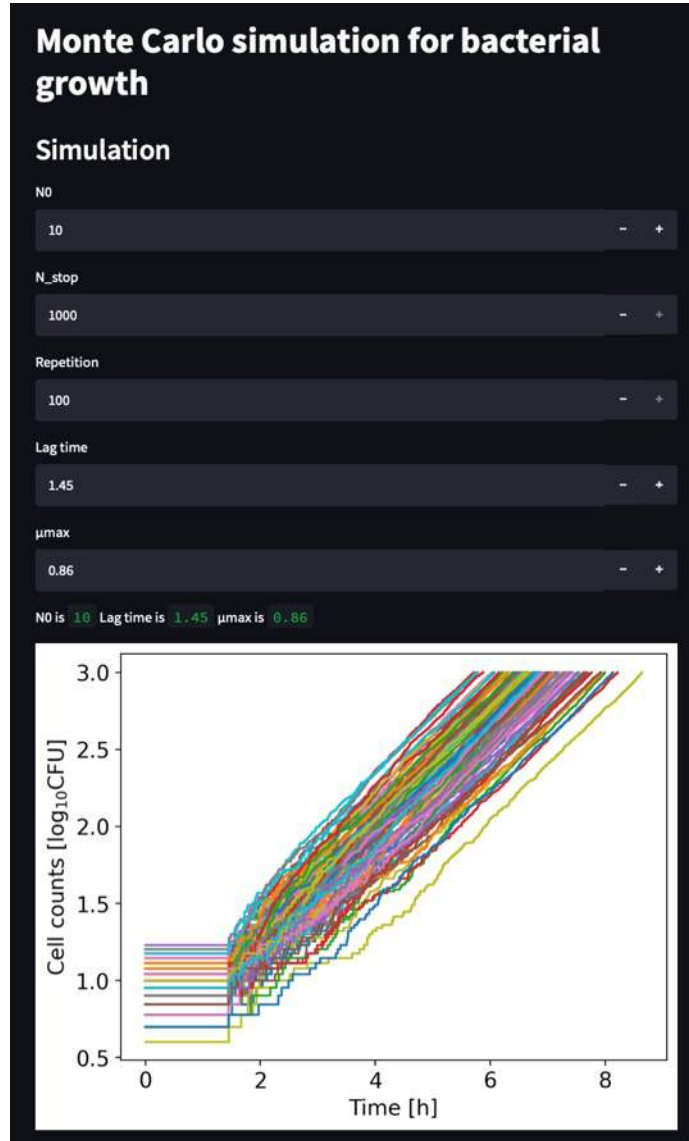
- ①初期菌数のバラつき [ポアソン分布で表記]
- ②死滅過程における生残細菌数のバラつき [二項分布で表記]
- ③増殖過程における増殖した細菌数のバラつき [負の二項分布で表記]



細菌挙動の簡易シミュレーションアプリ

細菌の増殖 <https://bit.ly/3yXeuly>

細菌の死滅 <https://bit.ly/3OZ0WCc>



細菌挙動の確率論的な評価に関しては以下の小山先生のページを参照してください！

<https://scrapbox.io/kentokoyama/>



5. データマイニングによる予測

過去に蓄積された食品有害細菌の増減データ解析による知的発見

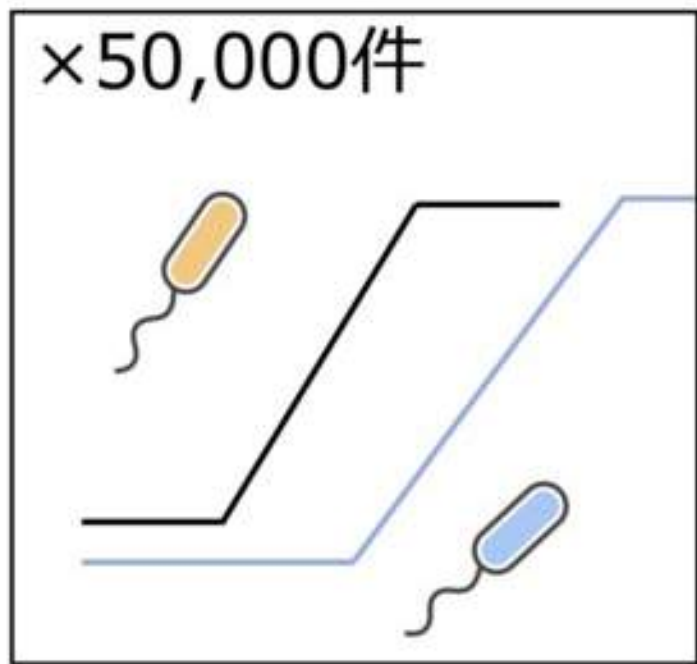




研究背景：微生物的な安全性を取り巻くデータ

細菌の増殖・死滅のパターン

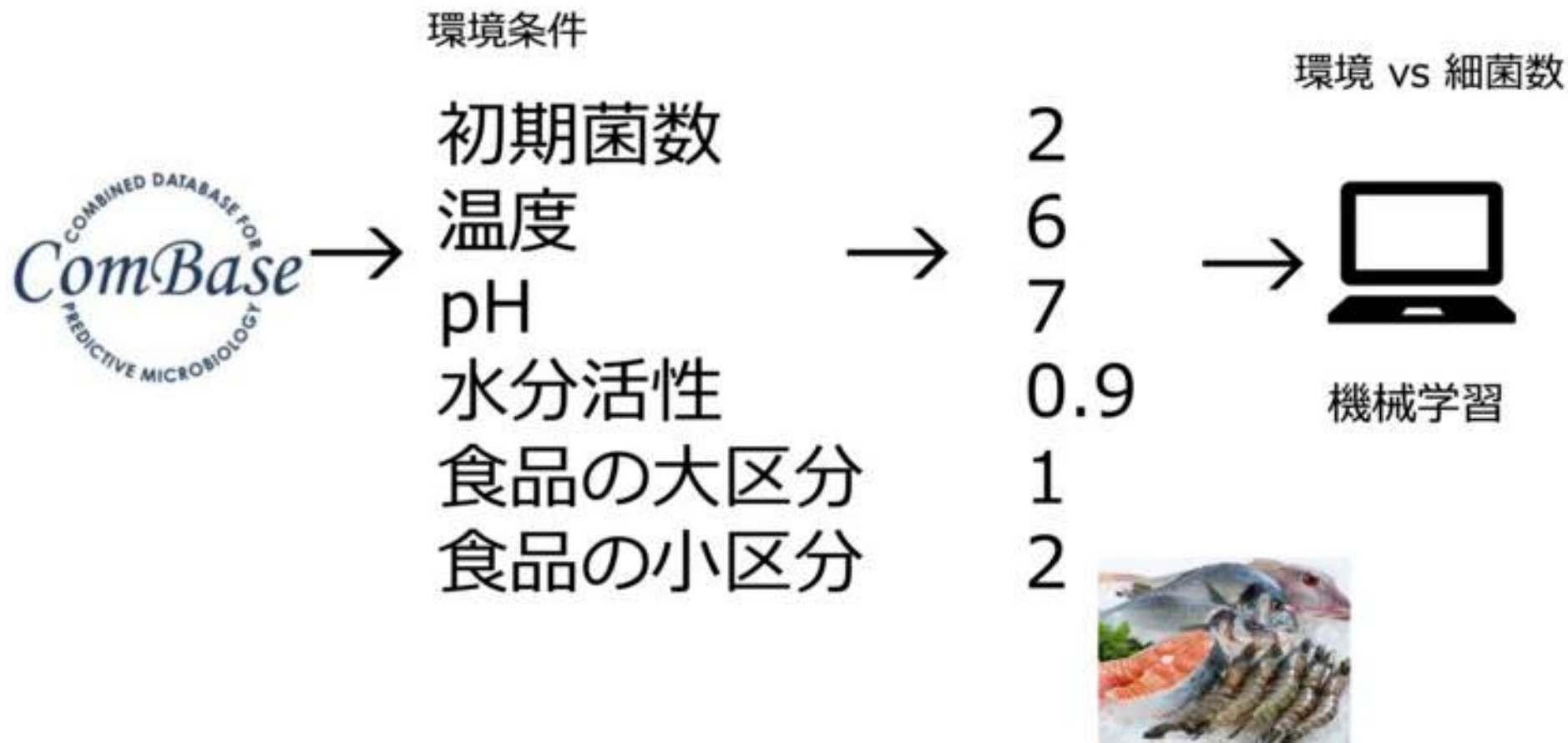
細菌濃度の対数 [log/CFU]





方法：データセット

機械が読みやすい数字にデータを翻訳





結果：予測の具体例

細菌数の時間変化



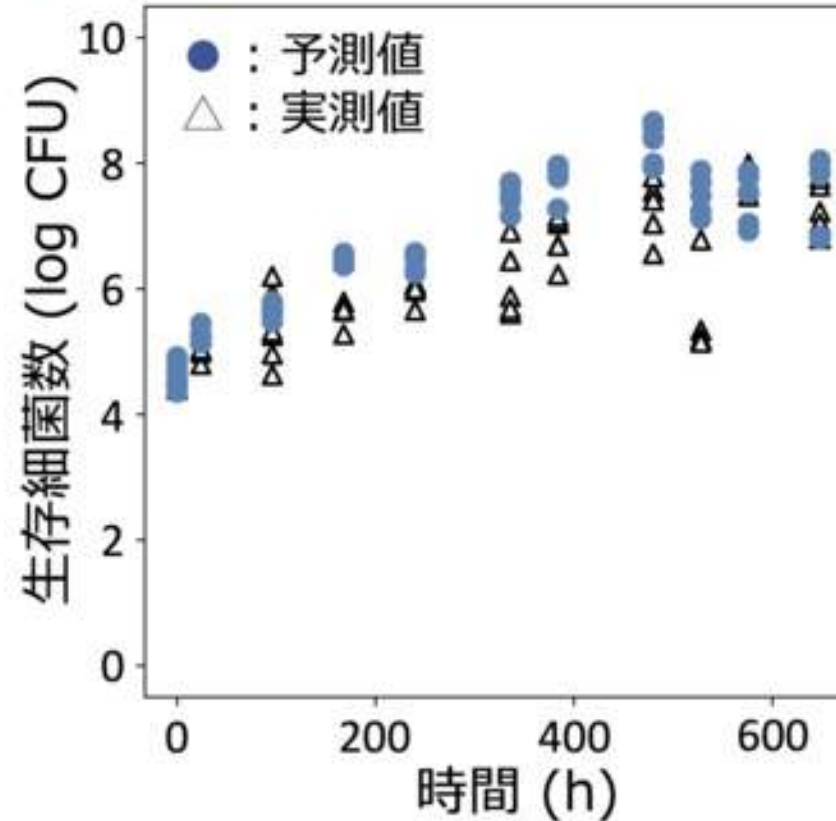
テストデータ (b)

条件

食品カテゴリー : 豚肉
食品名 : ハム
温度 : 6°C
pH : 6.1
 a_w : 0.988

✓ 増殖挙動を予測

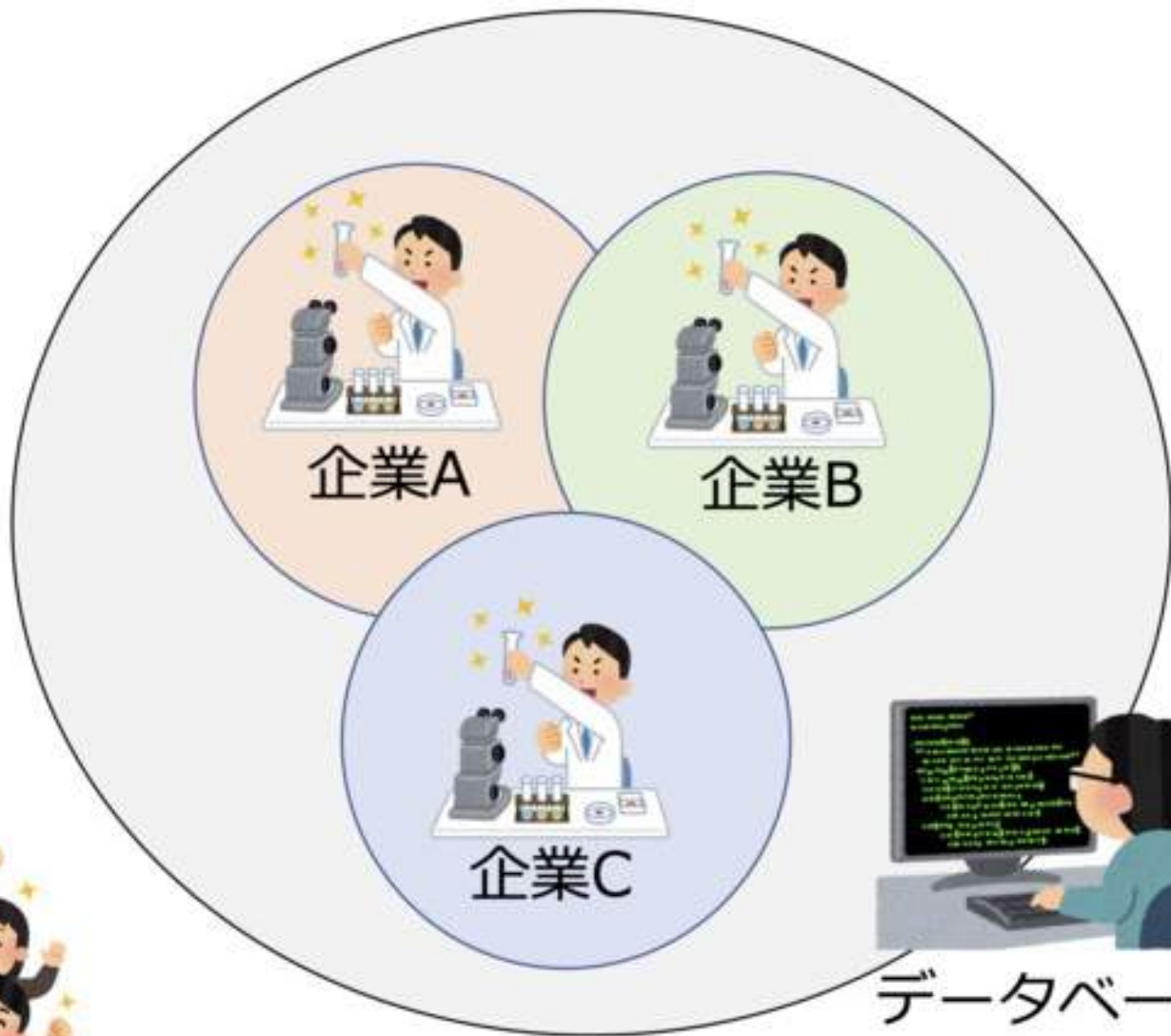
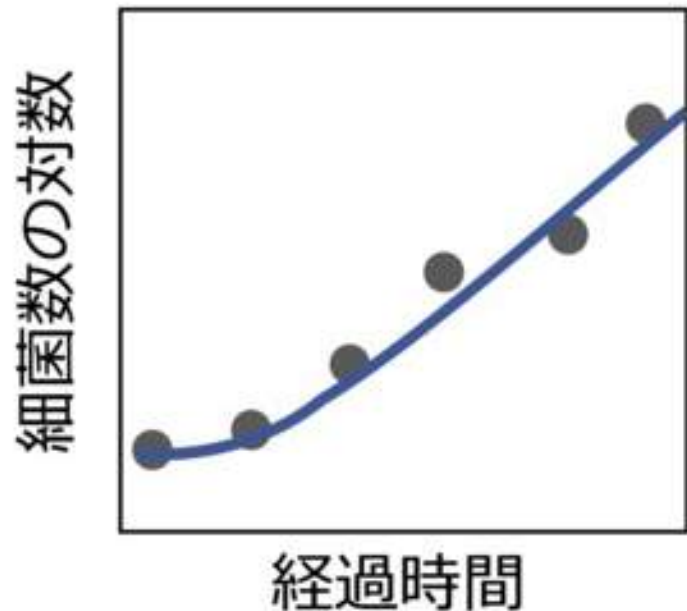
✓ RMSE : 0.69





今後の展開

～データ共有の構想～



競争から共闘へ

われわれは同じ有害な細菌を抑えたい同士

scientific reports







OPEN

Prediction of population behavior of *Listeria monocytogenes* in food using machine learning and a microbial growth and survival database

Satoko Hiura, Shige Koseki & Kento Koyama 

本日のまとめ

-  **Food Safety Objective (FSO, 喫食時目標菌数) を基にした製造・流通条件の論理的な設定に予測モデルを活用**
-  **ターゲットの細菌を増殖させないための条件決定に増殖／非増殖境界モデルを活用：モデル構築の方法とポイント**
-  **細菌挙動のバラつきを確率論的に可視化可能**
-  **過去の蓄積データの活用方法：データマイニング（機械学習）**

長時間おつきあい，ありがとうございました
ご不明な点は遠慮なくお問合わせ下さい。



こせき しげのぶ
小関 成樹

koseki@bpe.agr.hokudai.ac.jp

