

高圧処理による牛肝臓中の *Escherichia coli* の不活化に関する検討

研究協力者 荻原 博和 日本大学生物資源科学部
研究協力者 岡田由美子 国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者 五十君静信 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨：牛肝臓中の食中毒菌に対し加熱によらない殺菌処理を行う目的で、静水圧を利用した高圧処理を実施し、人工的に牛肝臓に汚染させた大腸菌の不活化効果を検討した。その結果、予備検討である菌懸濁液を用いた殺菌試験では、400MPa・10min 処理で5Dの殺菌効果が得られた。大腸菌を接種した肝臓を用いた殺菌試験では、500MPa・10min 処理で5Dの殺菌効果が得られ、有効な不活化効果が認められた。しかしながら、肝臓の色彩と硬度に大きな変化がみられたため、十分な殺菌効果が得られ、尚且つ品質変化の少ない高圧処理条件の検討が必要であると考えられた。

A. 研究目的

食品や食材の殺菌には、一般的に加熱処理が行われており、食品の安全性に貢献している。一方で食材は加熱による処理を行うと、その性状や外観が変性することが知られている。これに対して加熱処理を伴わない、非加熱処理については化学的処理と物理的処理技術があり、代表的な処理技術は放射線、高電圧パルス、パルス光、高圧殺菌処置技術等が知られている。そのなかでも静水圧を利用した高圧処理は、1980年代に日本において林氏が、約100MPa以上の圧力を食品加工に利用する事を提唱して以来、高圧におけるさまざまな研究や高圧処理食品が開発されるようになった。高圧加工は加熱処理を施さないために、加熱による変性が少なく、比較的生の食材の香り、色、風味が保たれた品質の食品が製造可能である。また、高圧処理により微生物が死滅するので、高圧力による微生物の不活性化も可能である。

生肝臓は病原菌に汚染している可能性が高いことから、生食するためにはこれらの病原菌、特に腸管出血性大腸菌の殺菌や除

菌処理が必要となってくる。そのため生の食感をできるだけ残しつつ、これらの病原菌の殺菌を行い、病原菌による感染リスクの低減を図る必要がある。そこで非加熱殺菌処理の一つとして存在する高圧処理による生肝臓の *E. coli* の不活化効果の検討を行った。

B. 研究方法

(1) 試料

牛の生肝臓(レバ-)は市販の販売店および芝浦屠場より入手した。

(2) 供試菌株

実験に供した菌株は *Escherichia coli* O157:H7 を想定して、代表的な *Escherichia coli* ATCC25922 を用いた。-80 に保存してある菌株を取り出し、TSB培地を用いて37 で2代継代培養したものを実験に供した。

(3) 高圧処理からの *E. coli* の検出及び測定法

リン酸緩衝液からの菌数の計測は、非選択培地である PCA 培地を用いて混釈し、37 で 24 時間培養し、発育した集落を計測した。

食品検体からの大腸菌の検出は、PCA 培地および大腸菌群及び大腸菌の検出培地である日水製薬社製の酵素基質培地である XMG 培地を用いて、37 で 24 時間培養し、発育した青色集落を大腸菌として計測した。

(4) 高圧処理装置と処理方法

高圧処理装置は、高圧ポンプ、ヨ - クフレ - ム、圧力装置、制御盤から構成される加圧装置と恒温循環装置からなるスギノマシン社製を (HPV-80C20-S) を用いた。

加圧容器は間接加圧方式で高圧処理上限は 500MPa、加圧媒体は精製水で処理を行った。

(5) リン酸緩衝液に懸濁した *E. coli* の高圧処理による不活化効果の検討

リン酸緩衝液に懸濁した *E. coli* をアンプルに充填し、これらを高圧処理装置に設置し、200、300、400、500MPa の圧力で、それぞれ 10、20、30 分間の高圧処理を行った。各処理液は PCA 培地を用いて残存菌数を計測した。

(6) 高圧処理による肝臓中の *E. coli* の不活化効果とその外観の検討

牛の肝臓を(横 2cm×縦 3cm 厚さ 0.5cm 程度で重量 10g 程度)長方形のブロックにカットしたものを作製した。接種用の *E. coli* を均等に肝臓ブロックの 10カ所に 合計 100 μ l 接種した。これらをプラスチックバックに入れ、シ - ラ - でシ - ルを行った。さらにプラスチックバックに挿入して、二重の状態にして高圧処理試料を作製した。

これらを高圧処理装置に設置し、次の処理圧力 200、300、400、500MPa で 10

分間の高圧処理を行った。処理後、*E. coli* の検出測定には、PCA 培地による生残菌数の計測と *E. coli* の選択培地である XMG 培地を用いて発育した青色の集落を *E. coli* として計測した。さらに、処理後の肉色の変化を肉眼と色差計で測定し、肉質の硬さも検討した。

C. 結果及び考察

(1) リン酸緩衝液に懸濁した *E. coli* の高圧処理による不活化効果

リン酸緩衝液に懸濁した *E. coli* の高圧処理における結果を Fig. 1 に示した。高圧処理前の未処理での菌数は対数値で 9 log CFU/ml であった。これらの菌液の高圧処理を行うと、高圧処理 200MPa・10 分処理では未処理とほぼ同様の菌数を示し、高圧処理による菌数の減少は認められなかった。さらに高圧処理の時間を延長した 20 分処理では、死滅する現象が観察され、30 分処理で 1 オ - ダ - の減少が認められた。次に高圧処理 300MPa では、200MPa に比べて急激な菌数の減少が観察され、10 分処理で 4.4 log CFU/ml、20 分処理で 3.3 log CFU/ml、30 分処理で 2.9 log CFU/ml に減少した。さらに高圧処理 400MPa では 10 分処理で 3.0 log CFU/ml、20 分処理で 2.6 log CFU/ml、30 分処理で 2.9 log CFU/ml に減少した。最も圧力の高い 500MPa では、10 分処理で 1.9 log CFU/ml、20 分処理と 30 分処理では検出限界以下であった。以上の結果、高圧処理により 5 log CFU/ml の有効な殺菌効果が認められた圧力は 400MPa と 500MPa であった。さらに高圧処理時間を延長するにつれて、緩やかではあるものの殺菌効果が高まる傾向が認められた。

(2) 高圧処理による肝臓中の *E. coli* の不活化効果とその外観に及ぼす影響

牛肝臓に接種した *E. coli* の高圧処理による不活化効果を非選択培地の PCA 培地を用いて生残菌数の結果を Fig. 2 に示した。予備実験により高圧処理が *E. coli* に対して有効な死滅効果が認められたことから、牛の肝臓に *E. coli* を接種して高圧処理条件を 200MPa, 300MPa, 400MPa, 500MPa そして処理時間 10 分で行った。その結果、肝臓中の未処理菌数は 7.1 log CFU/g を示した。200MPa 処理ではほとんど菌数の減少が観察されなかった。300MPa から菌数の減少が観察され 1.5 log CFU/g の減少が認められた。さらに 400MPa では 3.0 log CFU/g の減少、最も高い圧力の 500MPa では 5 log CFU/g の菌数減少が認められ、5D 程度の殺菌効果が得られた。実際に有効な 5D 程度の殺菌効果が認められた圧力は 500MPa のみであった。

次に、同様に処理した試料を大腸菌の選択培地である XMG 培地を用いて検出測定した結果を Fig.3 に示した。未処理の接種菌数はやや非選択培地より少ない 6.8 log CFU/g であった。高圧処理 200MPa では菌数の減少は認められなかった。300MPa 以上の圧力から菌数の減少が観察され、300MPa では 1.8 log CFU/g の減少が認められ、400MPa では 3.1 log CFU/g 減少した結果となった。さらに 500MPa では 5.0 log CFU/g と有効な菌数の減少が認められ、5D 程度の殺菌効果が得られた。検出培地である非選択培地の PCA 培地と選択培地の XMG 培地間には顕著な差は観察されなかった。

以上のことから、非選択培地と選択培地による検出結果には、両者の測定法に差がないことから、選択培地に使用される選択

剤による損傷菌による影響は少ないものと推察された。

高圧処理による肝臓色の変化を測定した結果を Table1 に示した。肝臓の外観は圧力が高まるにつれて肝臓の色彩は、赤みが減少し肌色に変化する傾向が認められた。色彩色差計では、未処理の肝臓数値は L 値が 36.7 ± 1.3 , a 値が 6.5 ± 0.6 , b 値が 2.2 ± 0.3 を示した。圧力が高くなるにつれて、L 値は 200MPa より数値が増加し、300MPa で 44.3 ± 1.1 , 500MPa で 50.4 ± 0.4 に増加した。a 値では 300MPa に 10.1 ± 1.0 に数値の増加が認められたものの 400MPa と 500MPa では顕著な変化は認められなかった。さらに b 値では 300MPa まで大きな数値の変動は見られなかったものの、500MPa では 8.0 ± 0.6 にまで増加した。

次に高圧処理における肝臓の色と硬さの変化を Table 2 と Fig.4 に示した。肉色は処理前では鮮やかな赤褐色を示したものの、高圧処理 200MPa では赤みが少なくなるものの肝臓色を維持していたが、300MPa 以降、400MPa と 500MPa と圧力が高くなるにつれて、赤みが退色し、白っぽくなり加熱したような色合いとなった。

硬さについては、300MPa 以上で、当初の肝臓の柔らかさではなく、明らかに硬さが認められ、400MPa と 500MPa では弾力も感じられるようになった。特に未処理の肝臓とは肉質がかなり異なっていた。

以上の結果から、*E. coli* に対する効果は 500MPa・10min 処理で、5D の殺菌効果が得られ、有効な不活化効果が認められた。しかし、肝臓の状態は生の状態の色彩とテクスチャーは失われ、別物の感触となった。

D. 考察

高圧処理による肝臓中の *E. coli* に対する不活化効果は認められるものの、その食材はかなり変性することが観察された。さらに最終的には腸管出血性大腸菌を用いた殺菌効果の検討も必要であると思われ、加圧処理を導入される場合は不活化デ-タの構築も必要と考えられた。利用には効果的な加圧装置の改良と一貫した処理後の衛生管理の検討が必要であると考えられた。

E. 結論

非加熱殺菌処理方法の一つである高圧処理による生肝臓中の *E. coli* の不活化効果の検討を行った結果、 $500\text{MPa} \cdot 10\text{min}$ 処理で、 $5D$ の殺菌効果が認められた。しかしながら、高圧処理により肝臓の赤みが退色し、白っぽくなり加熱したような色調変化と、著しい硬化がみられ、品質が大きく変化していた。品質変化を防ぎ、十分な殺菌効果を示す条件の検討が必要であることが示された。

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願，登録状況

なし

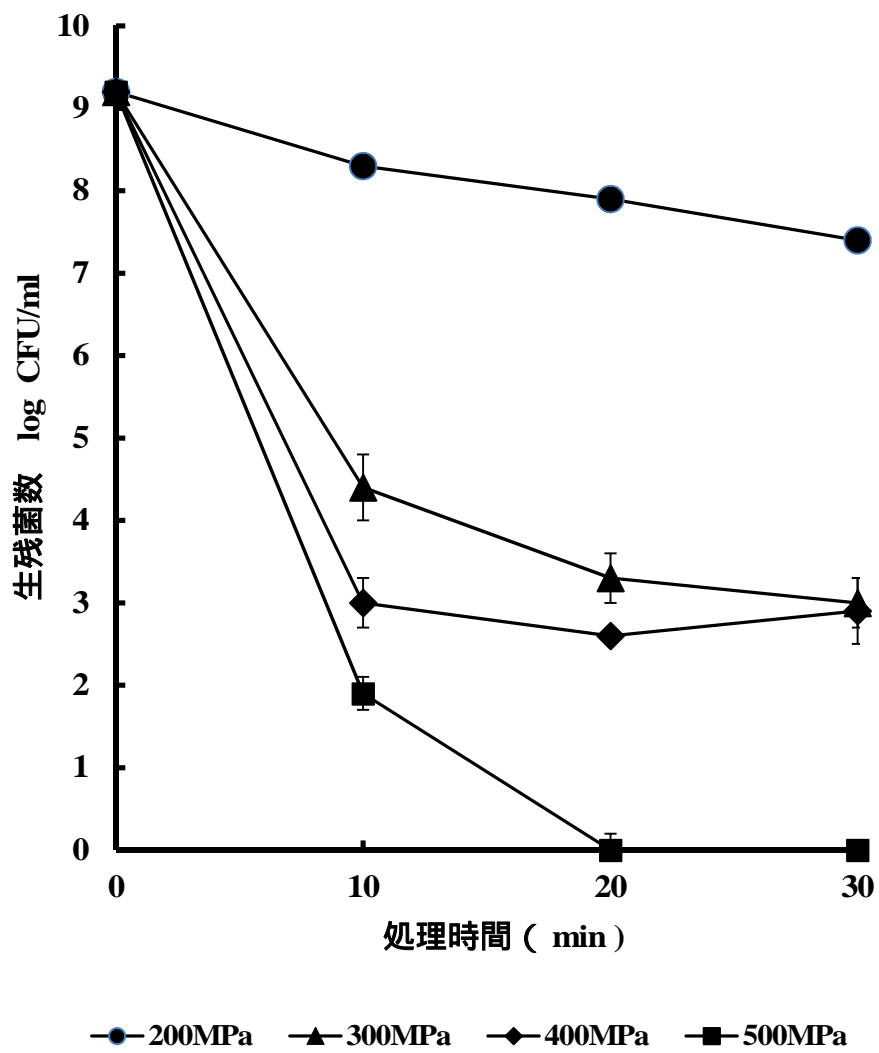


Fig. 1 リン酸緩衝液に懸濁した*E. coli*の高圧処理における不活化効果

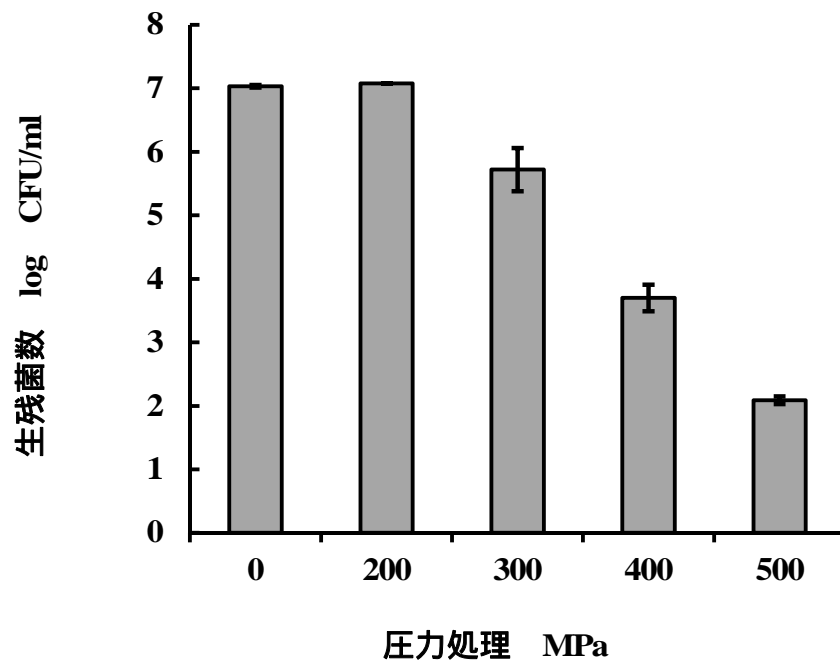


Fig.2 肝臓に接種した *E.coli* の高圧処理による不活化効果 (PCA培地での検出)

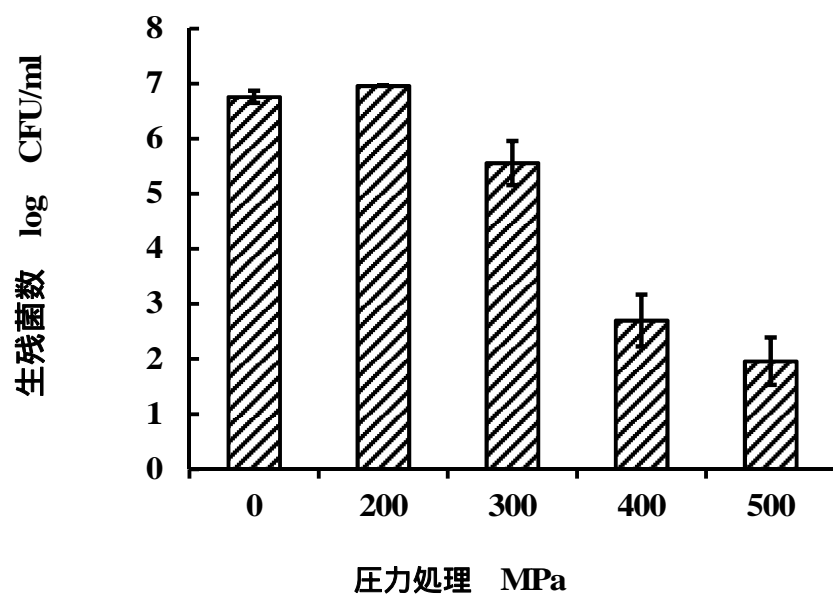


Fig.3 肝臓に接種した*E.coli*の高圧処理による不活化効果
(XMG培地での検出)

Table 1 高圧処理による肝臓の色差の変動

圧力(MPa)	L 値	a 値	b 値
0.1Mpa	36.7±1.3	6.5±0.6	2.2±0.3
200MPa	38.1±1.4	6.7±0.5	0.5±0.4
300MPa	44.3±1.1	10.1±1.0	2.2±1.4
400MPa	47.7±1.9	10.9±0.4	6.2±0.7
500MPa	50.4±0.4	10.1±0.2	8.0±0.6

Table 2 高圧処理による肝臓の色と硬さの変動

圧力 (MPa)	肉色	柔らかさ・硬さ
0.1Mpa	鮮明な赤褐色	柔らかい
200MPa	やや鮮明な赤褐色	柔らかい
300MPa	赤茶色	やや硬い
400MPa	茶色	硬い
500MPa	黄茶色	弾力ある硬さ

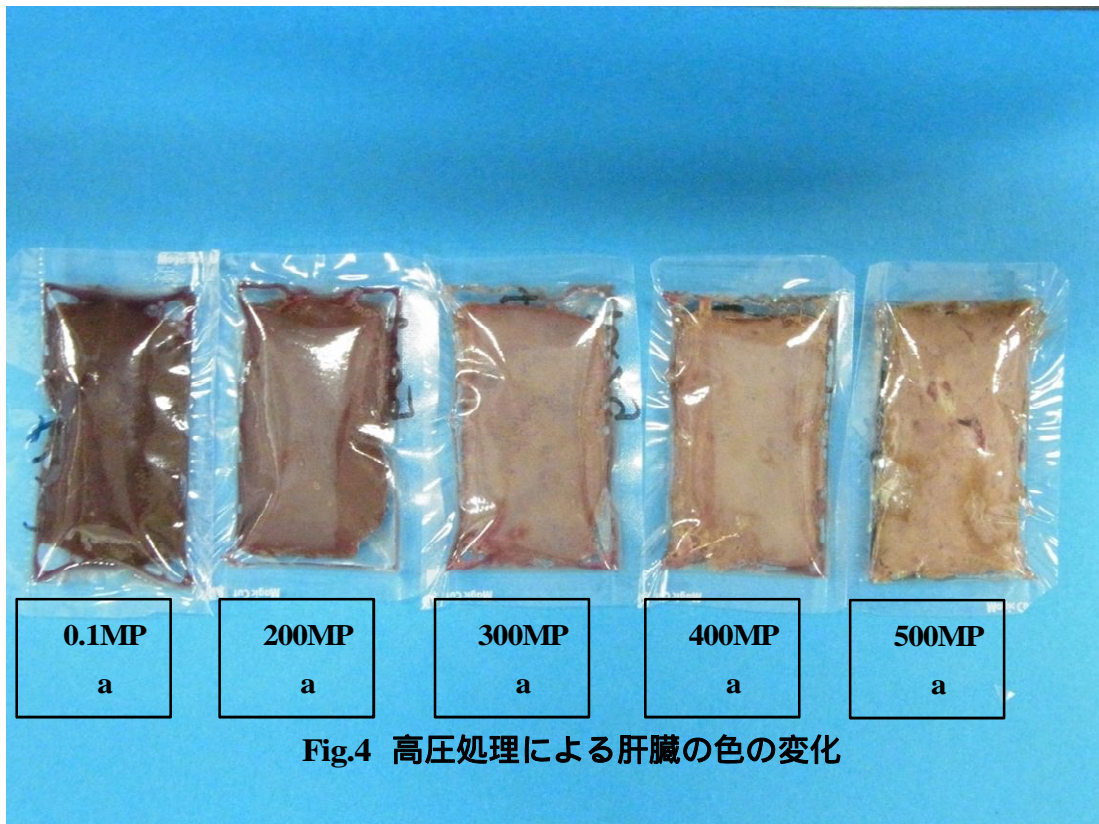


Fig.4 高圧処理による肝臓の色の变化

