

平成 27 年度 厚生労働科学研究費 食品の安全確保推進研究事業

畜産食品の安全性確保に関する研究

分担研究報告書

高圧処理による鶏ササミ中の食中毒原因菌の不活化に関する検討

分担研究者 岡田 由美子 国立医薬品食品衛生研究所

研究協力者 吉田 麻利江 国立医薬品食品衛生研究所

研究協力者 鈴木 穂高 国立医薬品食品衛生研究所

分担研究者 荻原 博和 日本大学生物資源科学部

研究要旨：鶏肉の生食及び不十分な加熱状態での喫食による健康被害は、日本国内でしばしば起こっており、その防止手法の確立が求められている。本研究では、非加熱殺菌法のひとつである高圧殺菌法を用いて、鶏ササミ中の食中毒原因菌の低減について検討した。過去の報告で牛内臓の高圧処理に用いられ、有効とされた 300MPa 5 分間の処理を 6 回反復する処理により、鶏ササミに接種したサルモネラが 2~5log の低減を示し、カンピロバクターでは 7log 以上が低減し、定量法では検出限界以下となった。今回の処理条件においては、肉色は白化する傾向を示した。サルモネラにおいて、高圧処理後の発育集落数は選択分離培地と非選択培地上で異なっている場合が見られ、高圧処理により損傷菌が発生していると思われた。以上の結果から、高圧処理により鶏ササミ中の食中毒菌の菌数低減が可能であり、特にカンピロバクターに高い効果を示したが、高圧処理後の鶏肉を生食用として提供することを可能とするには、サルモネラに対する殺菌効果を高めると共に、肉質の変化を最小限にとどめうる条件の検討が必要と思われた。

A. 研究目的

鶏肉による食中毒は、サルモネラ及びカンピロバクターを原因菌とするものが中心となっている。市販鶏肉におけるカンピロバクターの汚染率は 2008 年の調査で 41.8%、サルモネラは 46.7%と高率であり、現在食中毒事件数で 1, 2 位を占めるカンピロバクター食中毒と、サルモネラ食中毒の発生を減らすには、それらの原因食品となることが多い鶏肉の汚染低減が重要である。しかしながらこれらの細菌は、鶏肉の表面のみならず内部にも存在していることが知られており、食鳥処理

における衛生管理の向上のみでは、汚染率の低減は困難と思われる。本来これらの細菌は、加熱により死滅するものであるが、菌が内部にも存在しているため、加熱不十分な鶏肉の喫食による食中毒事例がしばしば起こっている。更に、一部国民の生食嗜好により、鶏肉やその内臓肉を刺身やたたきとして生食または部分的な加熱のみで喫食することによる食中毒事例も多発している。鶏肉の喫食、特に生食による食中毒発生を減少させるためには、これらの病原菌に対し加熱によらない殺菌を行い、感染リスクの低減を図る必要がある。

非加熱殺菌法には、放射線、高電圧パルス、パルス光等があるが、なかでも静水圧を利用した高圧処理は、果実等の生の香り、色、風味が保持されるとして、近年注目を集めている。初年度及び昨年の本研究では、牛肝臓に添加した大腸菌の高圧処理による不活化の検討を行った。初年度の検討では400MPa及び500MPaの処理により5logの低減が可能であった。一方で、肝臓の肉色及び肉質変化が著しいことが明らかとなった。次年度は、250MPa180分の処理による肝臓中の*E. coli*への不活化効果と、肝臓の肉色及び肉質に及ぼす影響について検討を行ったところ、肝臓の変化は抑えられたものの、菌数の低減は2logにとどまった。今年度は、300MPa5分を6回反復する高圧処理条件による、鶏ササミ肉に人工的に接種したサルモネラ及びカンピロバクターへの菌数低減効果について検討した。

B. 研究方法

(1) 供試菌株

Salmonella Typhimurium LT2 株と *Campylobacter jejuni* NCTC 11168 株を用いた。サルモネラ菌株は-80℃に保存し、Brain Heart Infusion (BHI) 寒天培地に植え、単一集落を BHI 液体培地に接種して 37℃で 20-24 時間培養したものを添加試験に供した。カンピロバクター菌株は-80℃に保存し、Muller Hinton (MH) 寒天培地上でアネロパック及び嫌気ジャーを用いて 37℃で 2 代培養したものを、MH 液体培地に懸濁した菌液を添加試験に用いた。

(2) 検体

高圧処理を行う食品検体は、市販の鶏ささみ肉を用いた。接種試験用の検体は 10g 片に切断し、滅菌した高圧処理用袋に分包後、調整菌液を接種した。バキュームシーラーを用いて袋をシールしたのち、滅菌蒸留水を入れた外袋内で更にシールして密封した。硬度及び色彩を測定する検体と病

理組織学的検索に用いる検体は、1本のササミを滅菌済み高圧処理用袋に入れて密封したのち、滅菌蒸留水と共に外袋に密封した。

(3) 高圧処理

高圧処理は、上記の二重包装済み検体を、TSF6-50 (東洋高圧)を用いて 300MPa、5分を6回反復する条件で行った。処理温度は 10℃から 20℃の範囲であった。

(4) 菌数測定

カンピロバクターに対する殺菌効果の測定は、高圧処理後の検体を 4 倍量の MH 液体培地中で 5 倍乳剤を作成し、各 100µl を MH 寒天平板及び CCDA 寒天平板に塗布後、MH 培地は 37℃、CCDA 培地は 42℃にてアネロパック及び嫌気ジャーを用いた微好気培養を行い、48 時間後に定型集落の計数を行った (定量試験)。また、一部検体を Bolton 培地で処理し、37℃で 4 時間、41.5℃で 44 時間微好気培養後に CCDA 培地に塗布し、42℃48 時間培養後に定型集落の確認を行った (定性試験)。サルモネラ属菌では、高圧処理後の検体を 4 倍量の滅菌生理食塩水中でストマッカー処理して 5 倍乳剤を作成し、各 100µl を BHI 寒天平板及び CHROMagarSalmonella 平板に塗布後、37℃で好気培養を行い、48 時間後に定型集落の計数を行った (定量試験)。また、5 倍乳剤の残りは 37℃で 18 時間前増菌培養後、RV 培地に接種して 42℃22 時間増菌培養ののち、CHROMagarSalmonella 平板に塗布する定性試験を実施した。定量試験では、平板に発育した定型集落数と希釈倍率から、高圧処理前及び処理後の検体中の菌数を算出した。

(5) 硬度及び色調

高圧処理による鶏ササミ肉の硬度及び色調の変化を測定するため、菌を接種しないササミ検体に (3) と同様の高圧処理を行った。未処理、300MPa

5分の高圧処理を1回、3回及び6回かけた検体について、レオメーターTP-10（ヤマデン）を用いて硬度を、色差系（コニカミノルタ）を用いて色調を計測した。

(6) 病理組織学的検索

(5) と同時に高圧処理した検体を10%中性緩衝ホルマリンで固定し、定法に従ってヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製した。作成した病理組織標本を光学顕微鏡で観察し、高圧処理による組織の変化を観察した。

C. 結果

1. 高圧処理による鶏ササミ中に接種したサルモネラとカンピロバクターへの菌数低減効果

300MPa、5分6回反復の高圧処理を行った結果の菌数を図1及び2に示した。高圧処理は3回実施し、平均及び標準偏差を求めた。

高圧処理前の鶏ササミにおけるサルモネラ及びカンピロバクターの菌数は、約 1.04×10^8 CFU/g及び約 7.2×10^7 CFU/gであった。高圧処理後のサルモネラ菌数は、非選択培地であるBHI培地上に形成された集落数で、1回目が 8.5×10^2 CFU/g、2回目が 1.05×10^6 CFU/g、3回目が 9×10^2 CFU/gであった(図1)。3回の試験のいずれにおいても、BHI培地上の集落数は、選択分離培地であるCHROMagarSalmonella上の集落数よりも多く、高圧処理により損傷菌が発生している事が示された。高圧処理後のカンピロバクター菌数は3回の処理全てにおいて、菌が検出されず、検出限界以下となった(図2)。但し、データは示していないが、いずれにおいても増菌培地を用いた定性試験においては、高圧処理後の検体からカンピロバクターが検出された。

2. 高圧処理が鶏ササミの色調と硬さに及ぼす影響

300MPa、5分の高圧処理による鶏ササミの肉色及び硬さの変化を測定した結果を表1及び2に、写真を図3に示した。未処理の鶏ササミの肉色は、明るさを示すL値が14.5、赤みを示すa値が2.3、黄色みを示すb値が6.3であった。300MPaの高圧処理の反復を行うと、1回の処理でL値が22.8となり、3回及び6回の処理においても1回目を超える値を示し、高圧処理の反復により、色調の明るさが増す結果となった(表1)。一方a値は高圧処理により、未処理のものよりも小さい値となり、高圧処理により赤みが失われることが示された。b値は高圧処理により数値が上昇していた。いずれの値も、処理回数に比例しての増加ではないものの、1回の処理で色調の変化を起こすことが示され、肉眼的な観察と相関する数値となった。硬さについては、最大破断点の加重により評価したところ、未処理のササミでは7.54065Nであったものが、1回の高圧処理により9.29252N、3回の処理で8.57844Nとなり、6回の処理後には12.55822Nの値を示し、実際の触感と高い相関を示していた(表2)。

3. 組織学的検索

300MPa、5分の高圧処理による鶏ササミの組織学的変化を図4、5に示した。

高圧処理を行っていない鶏ササミでは筋線維が密に存在しているのに対し、1回でも高圧処理をかけた鶏ササミでは、筋線維の分布が疎となっていた(図4)。筋線維のそれぞれが若干縮小しており、筋線維間には好酸性の微細な線維状物質が認められた(図5)。

D. 考察

鶏ササミ中のサルモネラ及びカンピロバクターの、高圧処理による不活化を検討した。過去の論文において、高圧条件を300MPaに設定し、5分間の処理を6回反復させることにより、同じ圧力で30分連続の処理を行うよりも高い殺菌効果が

得られるとされており、同様の条件での検討を実施した。その結果、カンピロバクターに対しては7log削減という高い菌数低減効果を示した。また、3回の試験におけるばらつきも見られなかった。増菌培養により菌が検出されたため、完全な除菌には至らなかったものの、今回の条件が鶏肉中のカンピロバクター削減に効果的であることが示された。一方サルモネラに対しては、平均して3logの削減にとどまり、試験間のばらつきも大きかった。また、サルモネラについては損傷菌の発生が見られたことから、処理後の保存条件によってはより多くの菌が蘇生する可能性があると思われる。これらの結果から、本菌がカンピロバクターよりも高圧処理に対する抵抗性が高く、今回の高圧条件はサルモネラに対しては効果が限定的であることが明らかとなった。一方、肉質の変化については、高圧処理により肉色に変化しており、硬さも増加して、6回の処理を行ったものについては、加熱処理したものと類似した肉質となっていた。以上の結果から、鶏ササミにおいて十分な殺菌効果を確保しつつ肉質変化を最低限に抑えた実用的な高圧処理条件を見いだすには、圧力条件と処理回数の組み合わせを変えた検討、高圧処理後の保管温度による生残性等の検討を追加する必要があるが、生食用としての提供には、更なる検討が必要であるが、最終的な包装形態で殺菌処理を行うため、処理以後の工程で微生物汚染を受ける

ことなく流通が可能な高圧殺菌は、畜産食品における衛生保持や品質保持期限の延長に有用であると思われる。

E. 結論

鶏ササミに人工的に添加した食中毒原因菌の高圧処理による不活化を検討したところ、300MPaで5分を6回反復する処理により、カンピロバクターは7log、サルモネラは2-5logの菌数低減が可能であった。一方、鶏ササミの肉質については、高圧処理により色調や硬さに変化が見られたため、生食用としての提供を可能にするには更なる条件検討が必要と思われた。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願、登録状況

なし

図1. 高圧処理による鶏ササミ中のサルモネラ菌数の変化

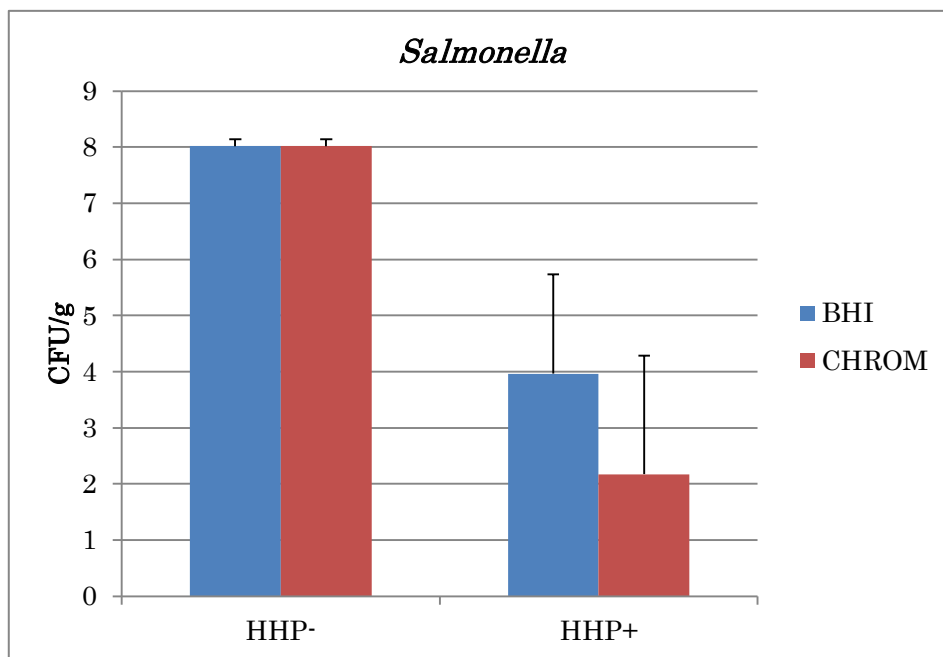


図2. 高圧処理による鶏ササミ中のカンピロバクター菌数の変化

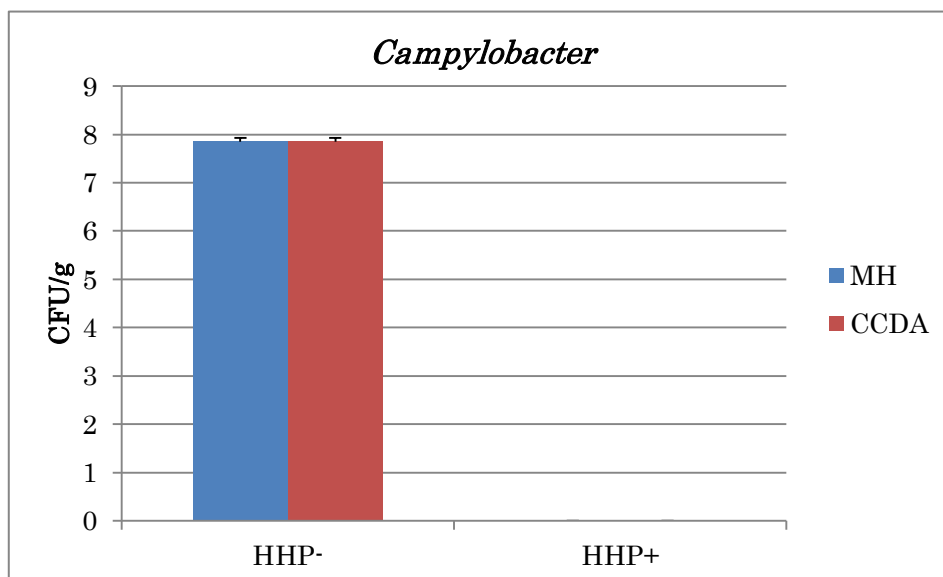


図3. 高圧処理による鶏ササミ肉色の変化

0回



1回



3回



6回



表 1. 高圧処理による鶏ササミの色調の変化

	L 値	a 値	b 値
0 回	14.5	2.3	6.3
1 回	22.8	1.7	8.0
3 回	25.3	1.8	7.0
6 回	23.4	2.1	7.1

表 2. 高圧処理による鶏ササミの硬さの変化

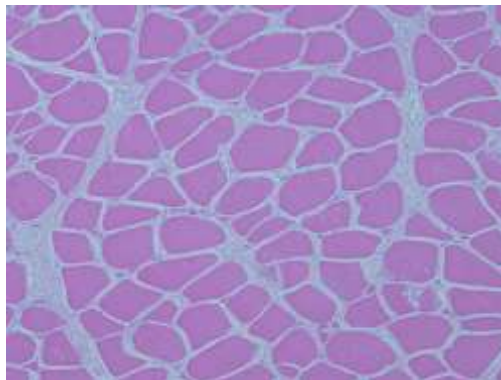
	荷重[N]
0 回	7.54065
1 回	9.29252
3 回	8.57844
6 回	12.55822

図 4. 高圧処理による鶏ササミの組織学的変化

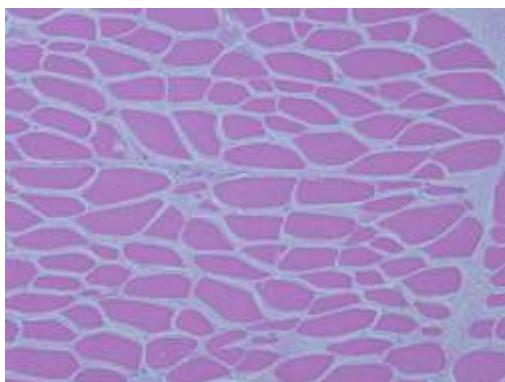
0回



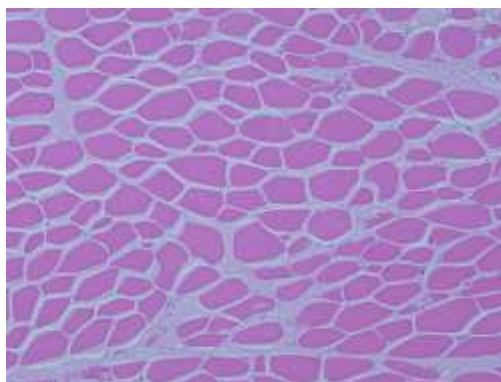
1回



3回



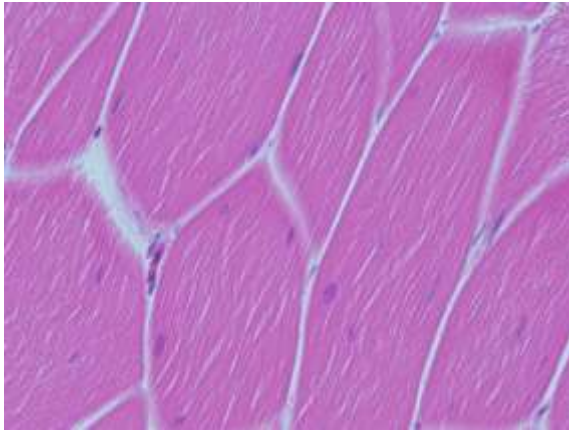
6回



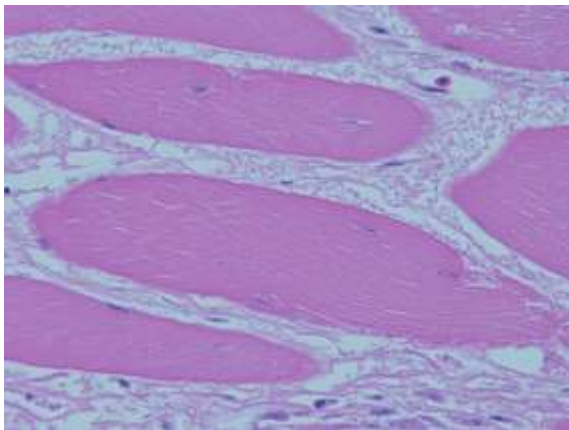
100μm

図5. 高圧処理による鶏ササミの組織学的変化 (強拡大図)

0回



6回



—
20μm