

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 鈴木 穂高 茨城大学農学部

研究協力者 百瀬 愛佳 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨：牛肝臓の生食については、致命率の高い食中毒を引き起こす腸管出血性大腸菌等の感染リスクが高いことから、安全に提供できる知見が得られるまでの間として、平成 24 年 7 月から生食用の提供が禁止された。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、牛肝臓中の食中毒原因菌の低減手法について検討した。今年度は、高圧処理時の温度が、食中毒菌の低減に与える効果と、牛肝臓の肉質変化に与える影響を検討した。高圧処理時の温度は、室温の他 37 と 42 を検討した。300MPa 5 分間を 3 回反復する高圧処理を各温度帯で行ったところ、サルモネラ属菌は 25 で 1.5~2.1 log、37 で 3.2~3.6 log、42 で 5.2~6.4 log の低減を示した。リステリアモノサイトゲネスでは、25 で 6.0~6.6 log、37 で 7.0~7.7 log、の低減を示し、42 では定量法の検出限界以下となったものの、増菌培養により菌が検出され、完全な死滅とはならなかった。また、非選択分離寒天平板上と選択分離培地寒天平板上の集落数を比較したところ、いずれの条件でも集落数が大きく異なり、高圧処理により損傷菌が大量に発生していることが示された。高圧処理が牛肝臓の肉質変化に与える影響は、今回の条件においては高圧処理単独では硬さの変化は見られず、高圧処理の有無に関わらず、37 及び 42 の加温で柔らかくなる傾向が見られた。色調変化については加温単独の影響はほとんど見られなかったが、高圧処理により白化を示す L 値が上昇し、加温下での高圧処理により白化と共に黄色みを示す b 値も上昇する傾向が見られた。以上の結果から、牛肝臓中の高圧処理を行う際に加温条件下で行うことで、食中毒菌の菌数低減効果を大幅に高めることが可能であることが示された。一方で、今回実施した条件では肝臓の色調変化が強く、高圧処理の反復回数を減少させる、加温温度を 30~32 にとどめる等、色調変化を抑制する条件の検討が必要と思われた。

A. 研究目的

日本国内で平成 23 年に発生した、牛肉の生食による腸管出血性大腸菌集団食中毒事例をきっかけに、食肉及び内臓肉を生食することの危険性が広く再認識された。食の安全を確保するため、生食用牛肉の加工基準の設定、牛肝臓の生食用提供禁止及び豚肉（及びその内臓）の生食用提供の禁止という行政措置が実施された。一方で、牛肝臓の生食の安全性を確保することにより、規制の解

除を求める声もみられている。食肉と異なり、肝臓において病原微生物は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、生食用食肉の加工と同様の表面除去では食用部分から微生物を取り除くことはできない。肝臓等を生食するためには、非加熱殺菌による処理技術を確立し、感染リスクの低減を図る必要がある。

高圧処理は、非加熱殺菌法の中でも、食品本来の香り、色、風味が保持されるとして、近年注目

を集めている。昨年度の本研究においては、食中毒菌の菌数低減効果をより高める条件を見出すことを目的として、高圧処理について検討を行ったところ、サルモネラ属菌では処理前後に冷凍保存することにより、更に 1log の菌数低減が可能であったが、病原大腸菌においては冷凍保存の効果は見られなかった。今年度は、高圧処理時の温度を上昇させることにより、菌数低減効果をより高める条件を見出すことを目的として、検討を行った。

B. 研究方法

(1) 供試菌株

Salmonella enterica は昨年度した 3 菌株で最も高圧耐性の高かった JCM1652 株を用いた。

Listeria monocytogenes は ATCC19115 株 (血清型 4b) を用いた。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 時間静置培養したものを高圧処理試験に供した。

(2) 検体

菌液を用いた殺菌効果の高圧処理試験では、(1) の培養菌液を高圧処理用袋に分注後、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。

肉質変化についての高圧処理実験に用いる牛肝臓は、購入後、冷蔵状態で運搬した。肝臓検体は 20g に切断し、高圧処理前の硬度、色調を計測後、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

菌液を用いた高圧処理試験では、二重包装済みの菌液検体を、Dr. CHEF (神戸製鋼株式会社) を用いて 300 MPa での高圧処理を 3 回反復する条件で行った。処理温度は、設定圧力到達時の温度が 25℃ から 42℃ となるように設定した。牛肝臓

を用いた試験でも、検体を二重包装し、菌液と同様の条件を用いた。

(4) 加温処理

牛肝臓における (3) の対照群として、常圧で温度のみ上昇させた場合の肉質変化の検討を行った。高圧処理用袋に密封した肝臓検体を 37℃ 又は 42℃ に設定した恒温水槽に沈め、高圧処理に要する時間と同じ時間、加温処理を行った。

(5) 菌数測定

菌液を用いた高圧処理試験では、高圧処理後の包装を無菌的に開封し、菌液を滅菌生理食塩水中で 10 倍階段希釈して、各希釈列の各 100 μl をサルモネラ属菌では TS 寒天平板及び CHROMagar サルモネラ平板に、リステリアでは BHI 寒天平板及び CHROMagarListeria 寒天平板に塗布後、25℃ で好気培養を行い、24 及び 48 時間後に定型集落の計数を行った。

(6) 硬度及び色調

高圧処理前、高圧処理後及び加温処理後の肝臓検体について、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。

C. 結果

1. 高圧処理時の温度による菌数低減の効果

食肉への汚染が知られているグラム陰性菌であるサルモネラ属菌と、グラム陽性菌のリステリアについて、高圧処理を行う際の高圧容器の温度が菌数低減効果に与える影響を調べた。その結果、サルモネラ属菌は 25℃ で 1.5~2.1 log、37℃ で 3.2~3.6 log、42℃ で 5.2~6.4 log の低減を示した (図 1-1)。リステリアモノサイトゲネスでは、25℃ で 6.0~6.6 log、37℃ で 7.0~7.7 log の低減を示し、42℃ では定量法の検出限界以下となったものの、

増菌培養により菌が検出され、完全な死滅とはならなかった(図1-2)。また、非選択寒天平板上と選択分離培地寒天平板上の集落数を比較したところ、いずれの条件でも選択分離寒天平板上の集落数が非選択寒天平板上の集落数よりも大幅に低下しており、高圧処理により損傷菌が多く発生していることが示された。

2. 高圧処理時の温度が牛肝臓の肉質変化に及ぼす影響

1. 同じ条件で牛肝臓の高圧処理を実施したところ、25 での高圧処理により、硬度の指標である最大破断点(N 値)が5.655 から5.332 になっており、ほとんど変化が見られなかった。37 の処理においても、5.706 から5.431 と変化が少なかったが、42 の処理では3.608 から1.542 と大幅に軟化していた(図2)。高圧をかけない加温のみの処理では、37 で5.780 から3.218、42 で4.123 から3.437 と、軟化する傾向を示していた。色調変化については、25 での高圧処理により、明るさの指標であるL 値が28.0 から44.0、黄色みの指標であるb 値が7.2 から11.3 に増加したものの、赤みの指標であるa 値は不変であった。37 及び42 の処理においても同様の傾向を示したが、25 処理と比較して、両者ともb 値がより高い数値を示していた。肉眼による観察では、高圧をかけることで白化し、温度を上げることでより白みが強くなる傾向が見られた。一方、高圧をかけない加温のみの処理では、L 値、b 値共に変化がほとんど見られず、肉眼による観察でも加熱による色調の大きな変化は見られなかった。

D. 考察

今回の検討により、高圧処理時の温度を25 から37 に上昇させることにより、サルモネラ属菌では50~100倍、リステリアでは10倍程度の菌数低減効果が見られた。また、処理温度を42 にすることにより、さらに高い菌数低減効果が見られ

たものの、高圧と温度の組み合わせ処理により、牛肝臓の変色も強くなることが明らかとなった。一方、25 における菌数低減効果はサルモネラで2log、リステリアでは5.5log であり、サルモネラの方がより高圧耐性が高いことが示された。また、選択分離培地上の集落数と非選択培地上の集落数の差はサルモネラで4log 以上、リステリアで2log 以上見られ、高圧処理による損傷菌はサルモネラでより発生しやすいことが示された。以上の結果を踏まえ、次年度の検討は、2log の菌数低減効果を保ちつつ牛肝臓の変色をより少なくするために、25 と37 の間の温度帯での高圧処理と、前年度検討した高圧処理後の冷凍保管の組み合わせ等の検討を行う。更に、今後高圧処理の実用化に当たっては、食品の変色、硬さの変化を最低限にすると共に、損傷菌の発生を最小限にしつつ、殺菌効果の検証において損傷菌を高感度に検出する手法を用いることが、食品の衛生確保上重要であると思われた。

E. 結論

高圧処理時の温度が、食中毒菌の低減に与える効果と、牛肝臓の肉質変化に与える影響を検討したところ、牛肝臓中の高圧処理を行う際に加温条件下で行うことで、食中毒菌の菌数低減効果を大幅に高めることが可能であることが示された。一方で、今回実施した条件では肝臓の硬度は低下傾向を示したものの、大きな変化は示さなかった。色調変化は白化及び黄化する傾向が示された。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

原著論文：H Ogiyara, H Suzuki, M Michishita, H Hatakeyama, Y Okada. (2017) Effects of high hydrostatic pressure processing on the number of bacteria and texture of beef liver. Journal of Food

Quality, ID7835714, 7 pages

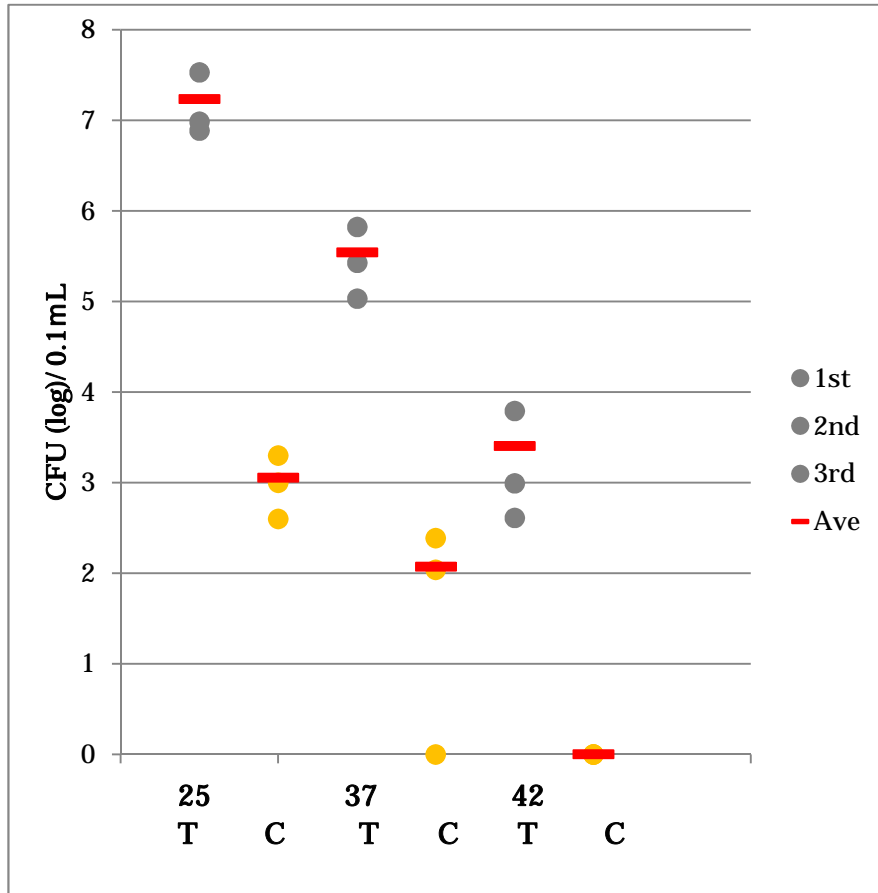
機構 . 第 91 回日本細菌学会 (2018 年 3 月)

学会発表 : 岡田由美子、鈴木穂高、百瀬愛佳 . 高
圧処理による *Listeria monocytogenes* の損傷と耐性

H. 知的財産権の出願、登録状況
なし

図 1-1 . 高圧処理 (300MPa5 分×3 回) 時の温度がサルモネラ属菌の低減に与える効果

処理前菌数は約 3×10^9 cfu/0.1mL

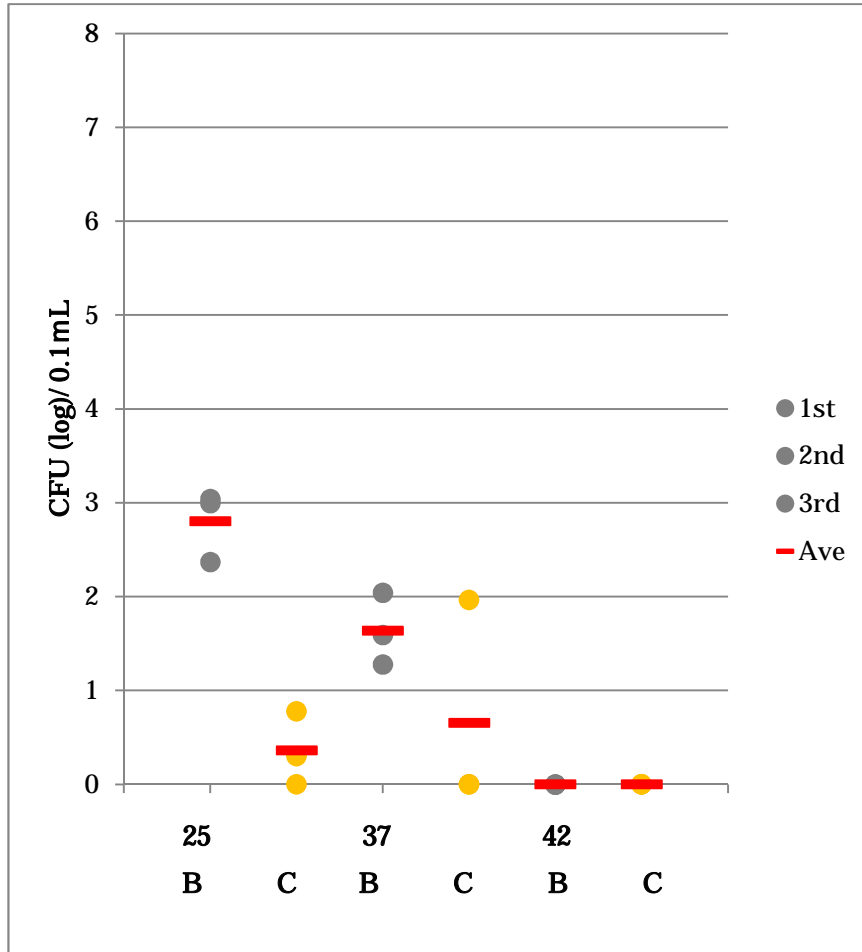


T: TSA 平板上の集落数

C: CRHOMagarSalmonella 平板上の集落数

図 1-2 . 高圧処理 (300MPa5分×3回) 時の温度がリステリアモノサイトゲネスの低減に与える効果







処理前菌数は約 3×10^9 cfu/0.1mL



B: BHI 寒天平板上の集落数

C: CHROMagarListeria 平板上の集落数

図2. 高圧処理時の温度が牛肝臓の肉質に及ぼす影響

温度			高圧なし		高圧有り			
	加熱前	加熱後	高圧前	高圧後	高圧前	高圧後		
25	硬度	N 値	5.655	-		5.655	5.332	
	色調	L 値	28.0	-		28.0	44.0	
		a 値	9.1	-		9.1	9.1	
		b 値	7.2	-		7.2	11.3	
37	硬度	N 値	5.780	3.218		5.760	5.431	
	色調	L 値	28.1	26.3		29.7	43.9	
		a 値	8.1	8		7.5	8.2	
		b 値	6.5	6.1		5.8	13.2	
42	硬度	N 値	4.123	3.437		3.608	1.542	
	色調	L 値	29.7	32.4		28.1	45.3	
		a 値	7.7	6.9		8.2	8.1	
		b 値	7.5	6.9		6.4	13.7	

