

平成30年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

「畜産食品の生物学的ハザードとその低減手法に関する研究」

### 分担研究報告書

高圧処理による牛肝臓中の食中毒原因菌の不活化に関する検討

研究分担者 岡田由美子  
研究協力者 鈴木穂高  
研究協力者 野田 衛

国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部  
茨城大学農学部  
国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部

**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、高圧処理後の温度が牛肝臓中の菌数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。300MPa 10分間の高圧処理後に42℃の恒温水槽で1時間の加温処理を行ったところ、一般生菌数は1.43~1.82logの低減を示した。高圧処理のみを行い加温処理を行わなかった検体では、0.59~0.78logの低減に留まり、高圧処理後の加熱処理により高圧処理単独よりも0.83~1.18log低減することが示された。一方、腸内細菌科菌群は処理前の肝臓から0~2.33 log/g、大腸菌は0~2.42log/g 検出されたが、高圧処理により全検体で検出限界以下となった。高圧処理及びその後の加温処理が牛肝臓の肉質に与える影響を検討したところ、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値が上昇すると共に、赤みを示すa値と黄色みを示すb値も上昇する傾向が見られた。高圧処理後の加温処理によりL値とb値は更に上昇を示したものの、昨年度の検討（42℃での300MPa、5分×3回）に比べ、色調変化は小さかった。以上の結果から、牛肝臓に対して高圧処理後に加温処理を行うことで、細菌数の低減効果を高めることが可能であることが示された。更に、昨年度の検討に比べ、今回実施した条件（300MPa10分1回後に42℃1時間）では肝臓の肉色が白化する傾向をある程度抑制することが可能であった。

#### A. 研究目的

平成23年に我が国で発生した牛肉の生食を原因とする腸管出血性大腸菌集団食中毒事例をきっかけとして、食肉及び内臓肉を生食することの危険性が国内に広く再認識され、食の安全を確保するために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なされた。その一方で、牛肝臓の生食の安全性を確保することによる規制解除の要望も依然として存在する。食肉の微生物汚染は主に表面であることが知られている

が、肝臓においては微生物が表面のみならず内部にも存在しており、肝臓表面の除去及び焼却等の処理では食用部分から微生物の除去は困難である。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ことが必要となる。高圧処理は、非加熱殺菌法の一つであり、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、高圧処理時の温度を上昇させることの効果について検討を行ったところ、サルモネラ属

菌は25°Cで1.5~2.1 log、37°Cで3.2~3.6 log、42°C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°Cで6.0~6.6 log、37°Cで7.0~7.7 logの低減を示した。一方で、37°C或いは42°Cでの高圧処理を行った牛肝臓は肉色の強い白化を示した。今年度は、菌数低減効果を保持しつつ肉色の変化を抑制する条件を見出すことを目的として、室温での高圧処理後に加温処理を行う条件を検討した。

## B. 研究方法

### (1) 検体

高圧処理実験に用いる牛肝臓は、東京芝浦臓器株式会社から購入し、冷蔵状態で運搬した。肝臓検体は10g片に切断し、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。

### (2) 高圧処理

二重包装済みの検体をDr. CHEF（神戸製鋼株式会社）を用いて300MPa10分間の高圧処理を行った。処理温度は、設定圧力到達時の温度が25°Cなるように設定した。

### (3) 加温処理

加温処理は、高圧処理用袋に密封した肝臓検体を42°Cに設定した恒温水槽に1時間沈めることで行った。

### (4) 菌数測定

処理後の肝臓検体は90mLの滅菌リン酸緩衝液（PBS）を加えてストマッカー処理を行い、10倍乳剤を作成した。また、必要に応じてPBSを用いて10倍階段希釈液を作成した。一般生菌数の測定にはペトリフィルムACプレート(3M)及びTEMPO AC(ビオメリュー)、腸内細菌科菌群の測定にはペトリフィルムEBプレート(3M)及びTEMPO EB(ビオメリュー)、大腸菌の測定にはペトリフィルムSECプレート(3M)及びTEMPO EC(ビオメリュー)を用いた。検体希釈液接種後は35°Cで好気培養を行い、24時間後に集落の計数を行った。

### (5) 硬度及び色調

未処理、高圧処理後、加温処理後及び高圧処理後に加温処理を行った肝臓検体について、レオメータ

—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. 高圧処理後の加温処理による菌数低減の効果

牛肝臓に自然汚染している一般細菌、腸内細菌科菌群細菌及び大腸菌について、高圧処理後の加温処理が菌数低減効果に与える影響を調べた。ペトリフィルムを用いた結果では、処理前の肝臓からは一般生菌は1.82~2.54log/g検出されたが、高圧処理後に加温処理を行った検体では、3検体全てにおいて1.43~1.82log/gの菌数低減を示した（表1）。高圧処理のみで加温処理をしない検体では、0.59~0.78log/gの低減に留まり、高圧処理後の加熱処理により高圧処理単独よりも0.83~1.18log低減した。加温のみでは、3検体中1検体のみで菌数の低減を示した。腸内細菌科菌群は処理前の肝臓から0~2.33log/g、大腸菌は0~2.42log/g検出されたが、高圧処理により全検体検出限界以下となった。腸内細菌科菌群及び大腸菌についてTEMPOを用いた結果は、ペトリフィルムを用いた結果とほぼ同等であった（表2）。

### 2. 高圧処理後の加温処理が牛肝臓の肉質変化に及ぼす影響

1.と同じ条件で牛肝臓の高圧処理を実施したところ、硬度の指標である最大破断点（N値）は未処理検体では7.54065であったが、42°C1時間の加温処理のみでは6.28387、300MPa10分間の高圧処理のみでは5.16039となっており、柔らかくなる傾向が見られた。一方、高圧処理後に加温処理を行った検体では、N値は6.17914となり、高圧処理単独よりも硬化する傾向を示したが、未処理検体よりも柔らかい傾向を示した。色調変化については、42°Cでの加温処理により、明るさの指標であるL値が23.3から26.6に増加したものの、赤みの指標であるa値は微減し、黄色みの指標であるb値も4.9から3.9に減少した。一方、300MPa10分の高圧処理により、L値は29.7、a値は7.5、b値は7.3に上昇し、未処理検体と比較して明るい色調となった。更に、高圧処理後に加温処理を行った検体では、L値が33.6、a値

が7.0、b値が8.6となり、肉眼による観察でも、高圧処理のみを行った検体より白みが強くなる傾向が見られた。

#### D. 考察

高圧処理後に42°Cで1時間の加温処理温度を行うことにより、高圧処理後に加温処理を行った検体では、3検体全てにおいて1.43~1.82log/gの菌数低減を示した(表1)。高圧処理のみで加温処理をしない検体では、0.59~0.78log/gの低減に留まり、高圧処理後の加熱処理により高圧処理単独よりも0.83~1.18log低減した。腸内細菌科菌群は処理前の肝臓から0~2.33log/g、大腸菌は0~2.42log/g検出されたが、高圧処理後の加温処理を行わなくとも、高圧処理単独で全検体検出限界以下となったことから、一般細菌での高圧処理のみ或いは高圧処理及び加熱処理を行った後に生残していた細菌は腸内細菌科に属するもの以外の菌であると思われた。昨年度実施した高圧処理を3回反復する際の処理温度を42°Cに上昇させる処理に比べ、今年度実施した高圧処理後に加温処理を行う条件の方が肝臓の肉質変化は抑制されていたものの、未処理の検体とは大きく異なる色調を示したことから、生食用の牛肝臓を十分なレベルで殺菌しつつ、肉色の白化を防ぐのは困難であった。

#### E. 結論

高圧処理後の加温処理が、牛肝臓内に存在する微生物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、高圧処理後に42°C1時間の加温処理で行うことで、一般生菌の低減効果を約1log高めることが可能であることが示された。また、今回実施した条件において昨年度検討には及ばないものの、肝臓の色調が白化及び黄化する傾向を示し、高圧処理により生食用肝臓の十分なレベルでの非加熱殺菌と、肉質変化の抑制を両立させるのは難しいことが明らかとなった。

#### F. 健康危機情報

なし

#### G. 研究発表

原著論文：なし

学会発表：

1. 岡田由美子、鈴木穂高、吉田麻利江、荻原博和. 高圧処理による畜産食品中の食中毒原因菌の不活化. 第161回日本獣医学会学術総会. 2018. 9. 12(つくば市)
2. Y Okada, H Suzuki, Y Momose, H Ogiwara. Inactivation of foodborne pathogens by HHP treatment in meats. 10<sup>th</sup> International Conference on HPBB. 2018. 9. 19-20. (沼津市)
3. 岡田由美子、鈴木穂高、吉田麻利江、百瀬愛佳、荻原博和. 高圧処理を用いた食肉中の食中毒菌不活化の検討. 第45回日本防菌防黴学会. 2018. 11. 14 (江戸川区)

#### H. 知的財産権の出願、登録状況

なし

表 1. 高圧処理 (300MPa10 分×1 回) 後の加温処理が牛肝臓内の菌数低減に与える効果 (ペトリフィルム)

	肝臓内一般生菌数 (CFU/g)			
	処理前	高圧のみ	温度のみ	高圧+温度
検体1	1.819544	1.041393	0	0
検体2	2.206826	1.612784	2.117271	0.778151
検体3	2.545307	1.959041	2.668386	0.778151
	肝臓内腸内細菌科菌群菌数 (CFU/g)			
検体1	0	0	0	0
検体2	1.041393	0	0	0
検体3	2.334454	0	2.557507	0
	肝臓内大腸菌菌数 (CFU/g)			
検体1	0	0	0	0
検体2	0.778151	0	0	0
検体3	2.416641	0	2.463893	0

表 2. 高圧処理 (300MPa10 分×1 回) 後の加温処理が牛肝臓内の菌数低減に与える効果 (TEMPO)

	処理前	高圧のみ	温度のみ	高圧+温度
	肝臓内腸内細菌科菌群菌数 (CFU/g)			
検体1	1.060698	0	0	0
検体2	0.778151	0	0	0
検体3	2.49276	0	2.513218	0
	肝臓内大腸菌菌数 (CFU/g)			
検体1	0	0	0	0
検体2	0	0	0	0
検体3	2.644439	0	2.673021	0

図1. 高圧処理後の加温処理が牛肝臓の肉質に及ぼす影響

高圧 -, 加温 -



L 値:23.3, a 値:4.7, b 値:4.9, 硬度:7.54065

高圧 +, 加温 -



L 値:29.7, a 値:7.5, b 値:7.3, 硬度:5.16039

高圧 -, 加温 +



L 値:26.6, a 値:4.4, b 値:3.9, 硬度:6.28387

高圧 +, 加温 +



L 値:33.6, a 値:7.0, b 値:8.6, 硬度:6.17914