

令和元年度 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リスクを低減するための研究」

分担研究報告書

「高圧処理による鶏肉及び内臓肉中の細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 食品衛生管理部
研究協力者 鈴木穂高 茨城大学農学部
研究協力者 西海理之 新潟大学農学部
研究協力者 筒浦さとみ 新潟大学研究推進機構
研究協力者 Maksimenko Anastasiia 新潟大学農学部
研究協力者 北條有紗 新潟大学農学部
研究協力者 王 偉童 新潟大学農学部

研究要旨：近年我が国で最も事件数及び患者数の多い細菌性食中毒はカンピロバクターによるものであり、その原因食品として加熱不十分あるいは、生の鶏肉が挙げられている。また、鶏肉（内臓肉を含む）にはサルモネラ属菌による汚染も知られており、鶏肉による食中毒を防止するため、鶏肉を汚染する食中毒菌の低減手法を確立することが強く求められている。本研究では、非加熱殺菌法の1つである高圧殺菌法を用いて、鶏のモモ肉、ムネ肉、砂肝及びハツ（心臓）中の細菌の低減について検討した。高圧処理による肉質変化の検討のため、100 MPa から 500 MPa で 10 分間の高圧処理を行ったところ、4 部位すべてにおいて色調の明るさ（L 値）及び黄色み（b 値）が増す傾向が見られた。モモ肉及びムネ肉は圧力依存性に硬度が増す傾向が見られたが、砂肝及びハツの硬さは高圧処理によって変わらないことが示された。大きな肉質変化が認められなかった最大圧力である 300 MPa で処理した場合の一般細菌数は、0.025～0.925 logCFU/g、大腸菌群は 2.462～2.663 logCFU/g、腸内細菌科菌群は 1.519～3.633 logCFU/g、の範囲で低減を示した。また、一般細菌の測定は公定法（寒天培地の混釈培養）を用いた結果と簡易培地の結果に差は認められなかった。サルモネラ及びカンピロバクターは、高圧処理前のモモ肉、ムネ肉及び砂肝から分離されたが、高圧処理後にはモモ肉から、カンピロバクターが定性法でのみ検出された。以上の結果から、肉質変化が比較的少ない 300 MPa で 10 分間の高圧処理により、鶏肉中の菌数低減が可能であった。一方で、一部検体においてカンピロバクターの生残が見られたため、次年度ではサルモネラ及びカンピロバクターの低減効果の定量的データの収集を含め、更なる検証が必要と考えられた。

A. 研究目的

近年、我が国の細菌性食中毒の中では、カンピロバクターを原因菌とするものが最も多い事件数となっている。原因食品が判

明した事例では、原因食品として鶏肉が多く挙げられている。市販鶏肉におけるカンピロバクターの汚染率は平成26年の調査で、モモ肉が42%、ムネ肉が40%と高率であり、

カンピロバクター食中毒の発生を減らすには、鶏肉の汚染低減が重要である。しかしながら、カンピロバクターは鶏肉及び内臓肉の表面のみならず内部にも存在していることがあり、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。本来カンピロバクターをはじめとする食中毒菌は、加熱により死滅するものであるが、加熱不十分な場合、菌が残存することがあり、実際、加熱不十分な鶏肉の喫食による食中毒事例がしばしば報告されている。更に、日本国民の生食嗜好により、鶏肉やその内臓肉を鳥刺し等による生食、あるいは鶏たたき、焼き鳥等表面のみの加熱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。

現在、非加熱殺菌法には消毒薬等による殺菌、ガンマ線等の放射線照射、高電圧パルス、パルス光、ガス置換等があるが、なかでも静水圧を利用した高圧処理は、食品の香り、色、風味が保持されるとして、近年注目を集めている。今年度は、モモ肉、ムネ肉、砂肝及びハツを用いて100 MPa から500 MPaの圧力による高圧処理を行い、その肉質変化を検討すると共に、肉質変化の少ない圧力条件による、これら4部位における一般細菌、衛生指標菌及び食中毒菌の菌数低減効果について検討した。

B. 研究方法

1. 検体

高圧処理の細菌低減実験に用いるモモ肉、

ムネ肉、砂肝及びハツは、東京都内及び新潟市内の鶏肉専門店で購入し、冷蔵状態で運搬後、5時間以内に実験に供した。高圧処理による肉質変化の検討に用いるモモ肉及びムネ肉は、筋線維の方向が同一になるように3×3×1 cmの大きさに切断した。砂肝は筋膜を除去してから半割にし、ハツは半割にして血餅を除去した。菌数低減効果の検討に用いる検体は、滅菌済みの器具を用いて10 g片に切断した。切断後の検体は、高圧処理用袋に入れて密封したのち、水と共に外袋に密封して二重包装とした。

2. 高圧処理

二重包装済みの検体をDr. CHEF（神戸製鋼所）を用いて、100、200、300、400及び500 MPaで10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約25 となるように設定した。

3. 菌数測定

検体10 gに90 mlの滅菌リン酸緩衝液(PBS、メルク)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。一般細菌数の測定は、Plate Count Agar（ベクトンディッキンソン）平板を用いた塗抹培養と並行して、簡易培地としてペトリフィルムACプレート(3M)を用い、35 で24時間培養を行った。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)、大腸菌群の測定にはペトリフィルムCCプレート(3M)を用い、製品に規定された条件で培養した。サルモネラ属菌の定量試験は、10倍乳剤100 μlをXLD寒天培地（オキシイド）及びCHROMagarサルモネラ（CHROMagar）に

塗布し、24時間後の定型集落数を計測し、確認培養後に集落数を確定した。サルモネラ属菌の定性試験は、ISO 6579-1:2017に基づき、10倍乳剤を37℃で18時間培養後にその一部をRappaport-Vasiliadis (RV)培地(オキシド)及びMuller-Kaufman Tetrathionate (MkTTn)培地(メルク)に接種して、所定の温度及び時間の培養を行った。その後、XLD寒天培地及びCHROMagarサルモネラに塗布し、24時間後の定型集落の有無を確認し、定型集落の確認培養後に結果を判定した。カンピロバクターの定量試験は、10倍乳剤100 µlをCCDA寒天(SEL)培地(関東化学)CCDA寒天(OX)培地(オキシド)及びmCCDAクリアーHT寒天培地(ベクトンディッキンソン)に塗布し、48時間後の定型集落数を計測し、確認培養後に集落数を確定した。カンピロバクターの定性試験は、ISO 10272-1:2017を一部改変し、10倍乳剤1.5 mlをボルトン培地(オキシド)13.5 mlに接種し、37℃で4時間培養後に41.5℃で44時間培養した。培養液1白金耳を上記の寒天培地に塗布し、微好気条件において41.5℃で48時間培養した。

4. 色調及び硬度

未処理及び高圧処理を行った検体について、色差計(コニカミノルタ)を用いて色調を、レオメーターTP-10(ヤマデン)を用いて硬度を計測した。

C. 結果

1. 高圧処理が鶏肉及び内臓肉の肉質変化に及ぼす影響

100、200、300、400及び500 MPaの圧力で

10分間処理したモモ肉、ムネ肉、砂肝及びハツについて、色調と硬度の変化を測定した(図1、2、3及び4)。その結果、4部位すべてにおいて色調の明るさの指標であるL値及び黄色みの指標であるb値が増す傾向が見られた。モモ肉及びムネ肉では、赤みの指標であるa値には高圧処理による大きな変化は見られなかったものの、砂肝及びハツでは、圧力依存性なa値の上昇傾向が見られた。肉眼的観察では、いずれの部位も、300 MPaの処理により肉色に白濁がみられ、400 MPa以上の処理で、その傾向がより顕著であった(図1-3及び4)。

硬度の指標である最大破断点の荷重(N値)はムネ肉の未処理検体では9.855 Nであったが、500 MPaでの処理後は17.738 Nとなり、硬化傾向を示した。同様に、モモ肉のN値は未処理での10.959 Nから500 MPaでの処理後は17.585 Nとなり、モモ肉及びムネ肉は圧力依存性に硬度が増す傾向が見られた。一方、砂肝及びハツの硬さは高圧処理によって大きく変わらないことが示された(図1-1及び2)。

2. 高圧処理の鶏肉及び内臓肉に対する一般細菌の低減効果

モモ肉、ムネ肉、砂肝及びハツを自然汚染している一般細菌に対する、高圧処理の菌数低減効果を調べた(図5)。処理圧力には、肉質変化が許容範囲と考えられた最大圧力である300 MPaを用いた。高圧処理の結果、ムネ肉中の一般細菌数は0.025 log CFU/g、モモ肉では0.915 log CFU/g、砂肝では0.875 log CFU/g、ハツでは0.925 log CFU/g低減していた。簡易培地を用いた場合の一般細菌数を混釈培養の結果と比較した

ところ、いずれの部位でも結果の差は ± 0.5 log CFU/g以内であり、ほぼ同等であると考えられた。

3. 高圧処理の鶏肉及び内臓肉に対する衛生指標菌の低減効果

モモ肉、ムネ肉、砂肝及びハツを自然汚染している大腸菌と腸内細菌科菌群に対する、高圧処理の菌数低減効果を調べた(図6)。300 MPaで10分間の高圧処理の結果、ムネ肉中の大腸菌群菌数は2.462 log CFU/g、モモ肉では2.663 log CFU/g、砂肝では2.663 log CFU/g、ハツでは2.643 log CFU/g低減していた。腸内細菌科菌群は、ムネ肉で1.519 log CFU/g、モモ肉で1.653 log CFU/g、砂肝で3.633 log CFU/g、ハツで3.230 log CFU/g低減していた。大腸菌群は4部位すべてで高圧処理により検出限界未満となったが、腸内細菌科菌群はモモ肉及びムネ肉で高圧処理後も菌が検出された。

4. 高圧処理の鶏肉及び内臓肉に対する食中毒菌の低減効果

モモ肉、ムネ肉、砂肝及びハツを自然汚染しているサルモネラ属菌とカンピロバクターに対する、高圧処理の菌数低減効果を調べた(表1)。高圧処理前のムネ肉、モモ肉及び砂肝からサルモネラ属菌及びカンピロバクターが分離されたが、300 MPaで10分間の高圧処理の結果、ムネ肉、モモ肉及び砂肝はサルモネラ属菌が陰性となった。カンピロバクターについては、ムネ肉及び砂肝で高圧処理後に陰性となったが、モモ肉では一部検体から増菌培養後に検出された。

D. 考察

モモ肉、ムネ肉、砂肝及びハツの4部位に100から500 MPaで10分間の高圧処理を行ったところ、4部位すべてにおいて圧力依存性に明るさを示すL値の上昇傾向がみられ、肉眼的にも白濁していた。牛肝臓を対象とした先行研究では、大腸菌に対する菌数低減効果は200 MPaで10分間の高圧処理では見られず、300 MPa以上で観察されており、今年度の検討は鶏肉の4部位にある程度の肉質変化を起こすものの、比較的变化が抑えられており、菌数低減効果が期待される300 MPaで10分間の高圧条件による一般細菌、衛生指標菌及び食中毒菌に対する低減効果について調べた。その結果、グラム陰性菌である腸内細菌科菌群及び大腸菌群については2 log CFU/g前後の大幅な菌数低減効果が認められた。一方、これらに加えバチルス属等のグラム陽性菌を多く含むと思われる一般細菌については、1 log CFU/g前後の低減にとどまった。食中毒菌であるカンピロバクター及びサルモネラ属菌については、今回の処理条件でほとんどの検体において定性法の検出限界未満となったが、モモ肉のみ高圧処理後にも定性法でカンピロバクターの分離がみられた。このことから、鶏肉及び内臓肉について肉質の変化を抑制しつつ、自然汚染の食中毒菌を検出限界未満まで低減させるためには、処理圧力を変えることなく、高圧処理時間の延長、高圧処理温度の変更等の組み合わせを検討する必要があると思われる。次年度は、これらの検討を実施する予定である。

E. 結論

高圧処理が、モモ肉、ムネ肉、砂肝及びハツの肉質変化に与える影響と、それら検体に存在する微生物の低減効果を検討したところ、モモ肉及びムネ肉では圧力依存性に肉色が白化及び黄化する傾向及び肉が硬化する傾向が見られた。一方、砂肝及びハツでは、高圧処理による色調及び硬度の変化が限定的であることが示された。肉質変化が比較的少ない300 MPaで10分間の高圧処理により、鶏肉及び内臓肉中の菌数低減が可能であった。また、一般細菌数の検討に、平板塗抹と同様に簡易培地を用いることが可能であった。高圧処理後の一部検体においてカンピロバクターの生残が見られたため、高圧処理時間の延長、高圧処理温度の変更等により、低減効果をより高める必要があると思われた。

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1-1. 100~500 MPa、10分間の高圧処理を行った鶏肉検体の肉質変化(1回目)

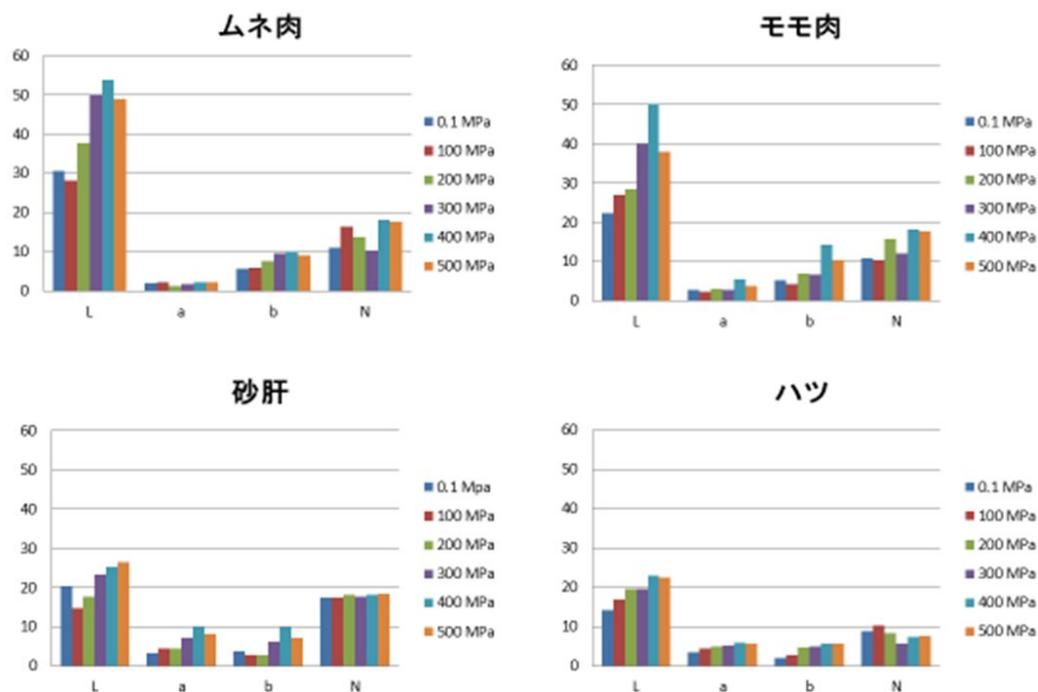


図1-2. 100~500 MPa、10分間の高圧処理を行った鶏肉検体の肉質変化(2回目)

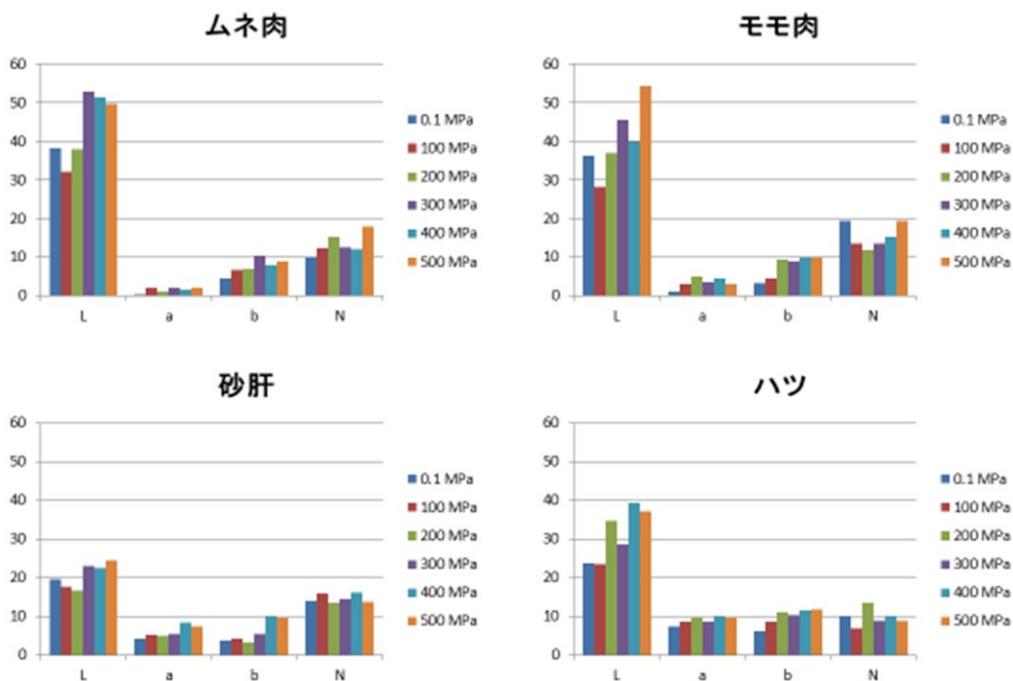


図1-3. 100~500 MPa、10分間の高圧処理を行った鶏肉検体の肉質変化(1回目)

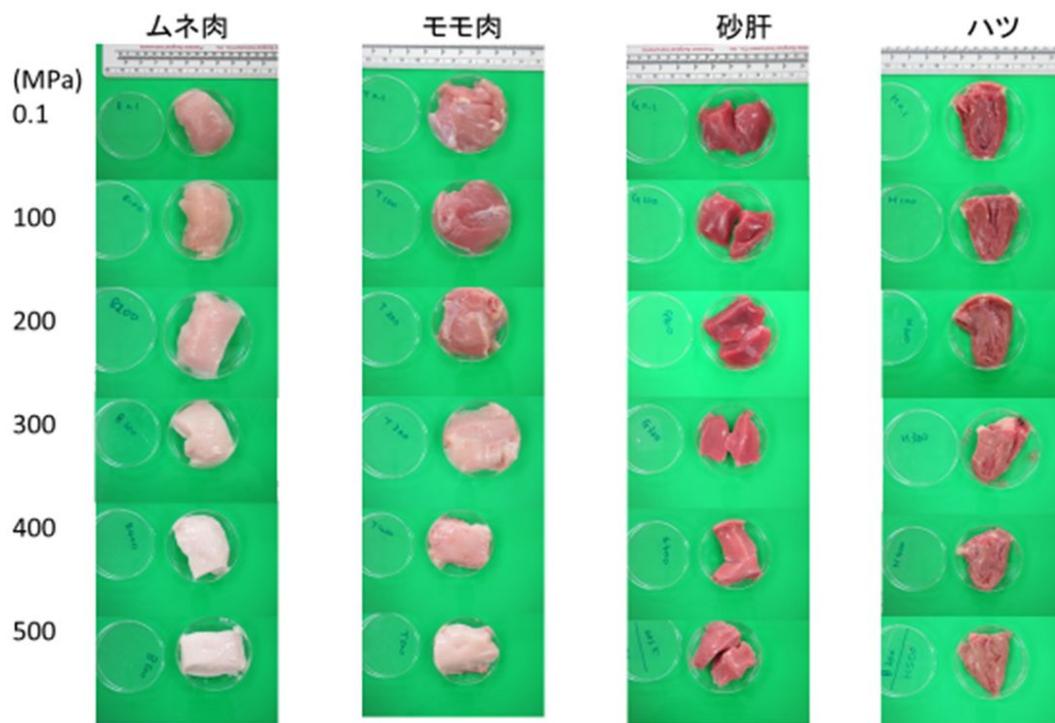


図1-4. 100~500 MPa、10分間の高圧処理を行った鶏肉検体の肉質変化(2回目)

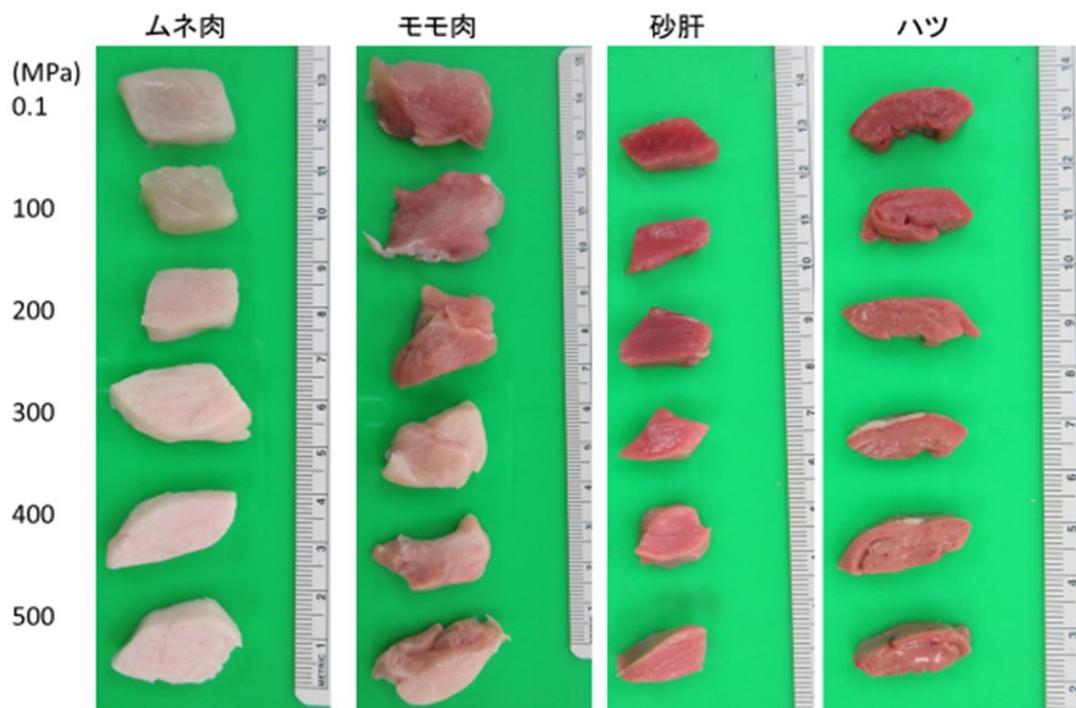


図2. 300 MPa、10分間の高圧処理を行った鶏肉検体における一般細菌数
(平板塗抹と簡易培地)

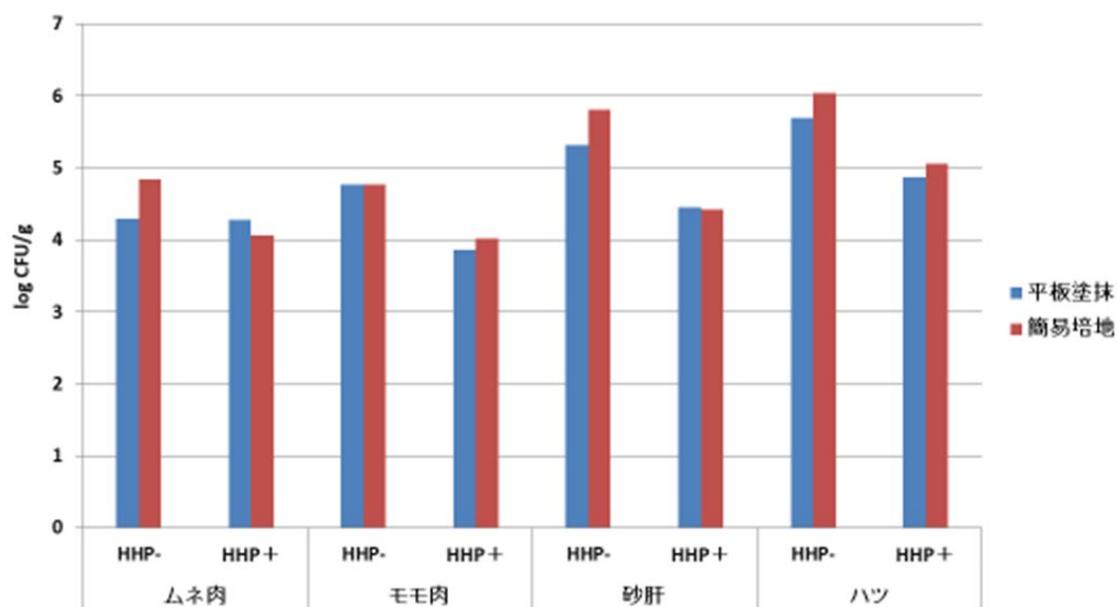


図3. 300 MPa、10分間の高圧処理を行った鶏肉検体における大腸菌群及び腸内細菌科菌群数(簡易培地)

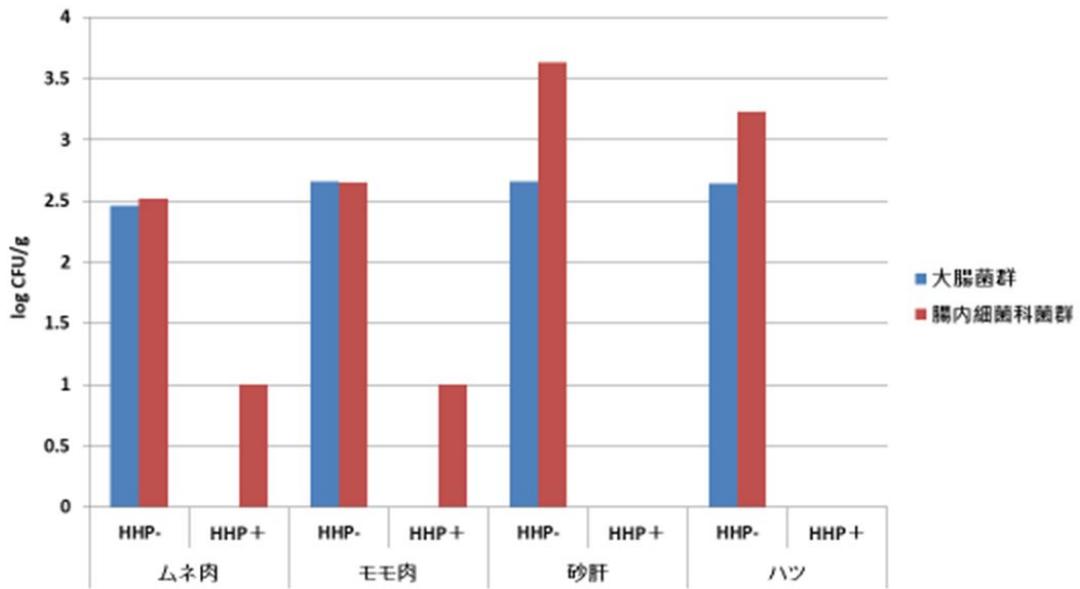


表1. 300 MPa、10分間の高圧処理を行った鶏肉検体における食中毒菌検出状況

		ムネ肉		モモ肉		砂肝		ハツ	
		HHP-	HHP+	HHP-	HHP+	HHP-	HHP+	HHP-	HHP+
サルモネラ	直接塗抹	-	-	+	-	-	-	-	-
	増菌培養 (RVS)	+	-	-	-	-	-	-	-
	増菌培養 (MkTTn)	+	-	+	-	+	-	-	-
カンピロバクター	直接塗抹	+	-	+	-	+	-	-	-
	増菌培養	+	-	+	+	+	-	-	-