

アサマ NEWS パートナー

2001-3 NO. 81

食 品 衛 生 講 座

食品加工と微生物 その4 卵・卵製品の微生物危害とその制御（2）

サルモネラの増殖しやすい卵を使った惣菜

サルモネラの増殖と死滅条件について、まず、卵を使った惣菜中での挙動について考えてみたい。

表1 サルモネラの増殖範囲

項 目	厚生省資料	FDA資料
温度	5～45.6	5.2～46.2
pH	4.5～8.0	3.7～9.5
最低水分活性	0.94	0.94
最高食塩濃度	-	8%

サルモネラの増殖条件の下限・上限は表1に示す通りである。厚生省とFDAの資料では数値が違うが、これは微生物の増殖が実験条件によっても違うことや、その増殖範囲の両端（下限・上限）付近では極めて遅くなるため、いずれかが間違いということではない。大まかな目安として、水分活性の下限は0.94、増殖pH域は4～9付近である。

表2 卵含有惣菜類のpHおよび、水分活性

惣菜名	pH	Aw
卵豆腐	8.02	0.978
茶碗蒸	7.73	0.980
厚焼卵 ^{a)}	7.41	0.966
ピータン	10.23	... ^{b)}
はんぺん	6.30	0.962
かに棒	7.84	0.956
焼かまぼこ	7.21	0.948
蒸かまぼこ	7.08	0.975
温泉卵 ^{a)}	6.70	0.964
ポテトサラダ	4.73	0.977
マカロニサラダ	5.02	0.967
卵サラダ ^{c)}	7.11	0.983
とろろ芋+卵 ^{c)}	6.70	0.976
納豆+卵 ^{c)}	7.40	0.968
蟹サラダ ^{c)}	7.11	0.983
マヨネーズ	4.10	0.932

a) 中心部、b) 揮発成分が多く測定不能。

c) 市販品ではなく試作品

表2¹⁾は卵を使った各種惣菜のpHと水分活性を示したものである。この表の中ではマヨネーズとピータンはpHがサルモネラの増殖範囲外にあり、マヨネーズを使ったサラダ類が4.7～5.0と低めであるが、その他は至適条件に近いものが多い。また水分活性もマヨネーズが増殖範囲外、焼かまぼこが0.948とやや低めなほかはいずれも増殖に適しているといえる。ただしこの表の値は一例であるので、同じ名前の惣菜でも原料の配合や製法によって水分活性やpHはかなり異なることがあると思っていただきたい。

意外と多い自家製のマヨネーズ・サラダによる食中毒

マヨネーズ中ではpHと水分活性からサルモネラは増殖しないと述べたが、これは市販製品についてのことである。メーカーで製造のマヨネーズでは殺菌の卵黄を用い、食酢や食塩の量も十分微生物を抑制できるように調整されているが、旅館や飲食店などで自家製の場合は無菌の卵黄を用いているとは限らず、食酢や食塩の量も食味を重視して経験的に調節されることが多く、pHも微生物制御に十分でないため食中毒の原因となることがある。

最近の例では、平成9年に群馬県で起こったSE食中毒で460名の患者と1名の死者を出しているが、このときの原因食品は自家製マヨネーズを使った調理パンであった。

食中毒事例でマヨネーズが原因食品として報告されることは少ないが、実際には、上のような例のほか、マヨネーズを使ったサラダによる食中毒が多く、表3²⁾に示した1989～1996年の場合、サラダによる食中毒39件のうち、サルモネラによるものが25件（64%）で、21件（54%）はSEによっている。患者数では5,843名のうち、4,749名（81%）がサルモネラによるもので、4,486名（77%）はSEによるものであった。

表3 わが国の近年におけるサラダによる食中毒(1989～1996)

原因菌	中毒件数	患者数
<i>S. enteritidis</i>	21 (53.8%)	4,486 (76.8%)
<i>S. typhimurium</i>	2 (5.1)	242 (4.1)
<i>Salmonella</i> 07	1 (2.6)	6 (0.1)
<i>S. branderup</i>	1 (2.6)	152 (0.3)
黄色ブドウ球菌	4 (10.3)	281 (4.8)
腸炎ビブリオ	4 (10.3)	81 (1.4)
病原大腸菌	5 (12.8)	729 (12.5)
不明	1 (2.6)	3 (0.1)
計	39	5,843

中毒原因施設：給食施設、飲食店、販売店、旅館、製造所、家庭の順。

中毒原因：自家製マヨネーズ（SE汚染卵）、二次汚染、温度管理不良など。

この傾向は海外でも同じで、イギリスでは1988年に起こったSE食中毒19件のうち、9件（47%）が自家製マヨネーズに関係するものであった。またスペインのバスク地方でもサルモネラ食中毒60件のうち53%の32件の原因食が自家製マヨネーズ関連であったという。

自家製マヨネーズはすぐに使用し、冷蔵は避けたい

自家製のマヨネーズを使ったサラダや惣菜類でSE食中毒が多い理由は、市販のマヨネーズでは殺菌液卵を使っているのに対し、自家製では殻付き卵を自分で割ってそのまま（殺菌せず）使うので、卵がSE汚染されているとそのまま製品に持ち越されることになること、また市販品では賞味期限まで常温で長期間使用されることを考慮して、酢酸や食塩を多めに配合して、乳酸菌、カビ、酵母など耐酸性の微生物も抑制するように調整されているのに対し、自家製では作ってすぐ使用することが多いため、保存性より風味の方が重視されがちなことなどのためである。

しかも市販品では製造後しばらく工場の倉庫やスーパーのバックヤードに保管されたのち、消費者の手に渡るのに対し、自家製では調整後すぐに使用されるのが一般的で、残った場合は冷蔵庫に入れておいて随時取り出して使用する場合が多い。このような取り扱い方の違いは、万一SE汚染があった場合に食中毒が発生するかどうかということに大きく影響することになる。

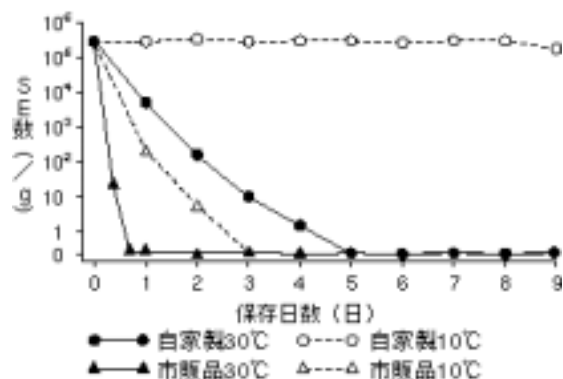


図1．自家製および市販配合マヨネーズに接種したSEの30℃および10℃における消長

ややわかりにくい話になってきたと思うが、図1³⁾を見ていただきたい。この図は、市販品と自家製のマヨネーズにSEを接種して10℃と30℃における消長をみたものである。市販品の場合、30℃では1日以内に、10℃では3日以内にSEは死滅するのに対し、自家製ではSEの死滅は緩やかで、30℃で5日後に死滅、10℃では9日間菌数はほとんど変化しない。しかも市販品、自家製品のいずれの場合も30℃の方が10℃よりも早く死滅することがわかる。

このことから、市販品でももしSE汚染があっても、出荷までの貯蔵中に死滅してしまうが、自家製ではSEがそのまま食卓に供されることになる。しかも冷蔵庫での保存はかえってSEの生残を長引かす効果を与えることがわかる。

冷蔵庫に入れて早めに食べたい

自家製マヨネーズのサラダ

このようなSE汚染のあるマヨネーズを使って3種類のサラダ（野菜サラダ、卵サラダ、かにサラダ）を作り、10℃と25℃に貯蔵したときのSEの挙動を調べた例³⁾によると、図2のように、10℃ではほとんど増殖しないが、25℃ではいずれのサラダでもSEは急速に増殖し、食中毒が起これうことになる。

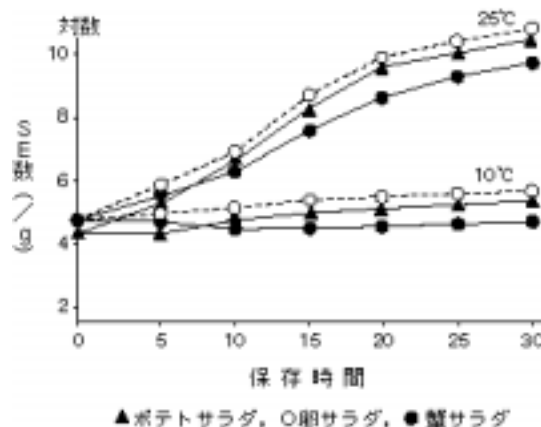


図2．25℃および10℃に保存された3種のサラダにおけるSEの消長

すなわち、サラダになった状態ではマヨネーズだけの状態よりも、酸や食塩濃度も薄まるので細菌の増殖しやすい状態になっている。従ってそれを抑制するには低温貯蔵が必要となる。一方マヨネーズ中では細菌は増殖できず死滅を待つだけの状態で生残しているの、このような場合は細菌の代謝活性のある状態（常温）の方が、低温で眠った状態よりも死滅を促進させる効果があることになる。

自家製マヨネーズを使ったサラダ類などの料理は早めに食べるようにしたい。

加熱殺菌と低温管理が主体の液卵のCCP

最後に、加工場でのSE対策について触れたい。

表4²⁾は実際の液卵工場での液卵の殺菌効果を示したものである。殺菌前には4.6～32.2%の汚染がみられるが、殺菌後はいずれも陰性になっている。またこの菌は中温性であるので、低温管理をきちっと行えば増殖は防止できる。全卵中では5℃では増殖せず、10℃ではゆっくりと増殖するが、卵白中では10℃以下であれば増殖が阻止される。したがって、実際の液卵製造工程でのSEに対する重要管理点（CCP）は加熱殺菌と低温管理が中心となる。

表4 割卵工場における液卵の殺菌効果例^{a)}

液卵	工場	殺菌条件	サルモネラ陽性率	
			殺菌前	殺菌後
全卵	N	60 3.5分	33/207 ^{b)}	0/75
	NI	58 10分 ^{c)}	55/411	0/54
	HI	58 10分 ^{c)}	44/512	0/52
卵黄	Z	60 3.5分	28/150	0/20
	T	60 3.5分	14/307	0/36
	I	60 3.5分	29/90	0/12

a) 殺菌効果を明瞭にするため、殺菌前陽性率の高い工場および時期のデータを選んだ。

b) 分母は供試検体数、分子は陽性検体数。

c) パッチ式殺菌、その他は連続式殺菌。

厚生省により、1999年11月から卵黄の殺菌条件は61℃ 3.5分に決められた。

（東京水産大学食品生産学科教授 藤井建夫）

文献

- 1) 今井忠平：食品衛生研究, 44 (7), 5-25 (1994)。
- 2) 今井忠平：月刊HACCP, 5 (6), 62-68 (1999)。
- 3) 栗原健志, 水谷宏：日食微誌, 11, 35-41 (1994)。

微生物制御に関するトピックス

黄色ブドウ球菌の生成する エンテロトキシンについて

1. はじめに

アサマNewsパートナー2000.9 No.78で「黄色ブドウ球菌の制御について」の解説のなかで、生成するエンテロトキシンが異状に熱抵抗性の大きいことを示した。本年6月雪印乳業大坂工場で製造された乳飲料による未曾有の食中毒事件の原因として、同工場の衛生管理の杜撰さと共に、主原因として同社大樹工場（北海道）製造の脱脂粉乳があげられている。

本稿ではNo.78の追加としてエンテロトキシンの生成とその熱抵抗性についてまとめてみることにした。

2. エンテロトキシンの生成

黄色ブドウ球菌（以下SAと略称する）は細胞外に生理活性物質として、溶血毒（hemolysin）、腸管毒（enterotoxin）、ヌクレアーゼ、コアグラーゼ、リパーゼ、プロテアーゼ、ヒアルロニダーゼを生成する。エンテロトキシンとしてはA型からH型の9種類のものが知られているが、表-1にはその性状がまとめられている。これらは分子量が大凡27000台で、アミノ酸残基約230よりなる蛋白質である。

表-1 黄色ブドウ球菌エンテロトキシンの性状

エンテロトキシン	分子量	等電点	吸光係数 1% E _{1cm}	Emetic Dose (ED ₅₀) (μl/monkey)	アミノ酸 残基	N-末端 アミノ酸	C-末端 アミノ酸
A	27,800	7.3	14.6	5	233	Ser	Ser
B	28,366	8.6	14.0	5	239	Glu	Lys
C ₁	27,531	8.6	12.1	5	239	Glu	Gly
C ₂	27,589	7.0	12.1	5~10	239	Glu	Gly
C ₃	26,900	8.2	12.1	5~10	236	Ser	-
D	27,300	7.4	10.8	20	238	Ser	Lys
E	29,600	7.0	12.5	10	230	Ser	Thr
G	-	-	-	-	-	-	-
H	27,900	5.7	-	-	218	Glu	Val

Emetic dose: 嘔吐量 (ED₅₀)

エンテロトキシンの生成に対しては培地組成、食品成分、pH、Aw、温度などの諸要因により影響をうけることはいうまでもない。

次にエンテロトキシンとサーモヌクレアーゼの生成経過の1例を図-1に示した。培地としてはカゼインのパンクレアチン消化物である3%N-ZアミンNAK + 1%酵母エキスをを用い、エンテロトキシンC₁、C₂ (SEC₁、C₂)、サーモヌクレアーゼの生成経過を検討した結果である。SEC₁は培養6~10hで検出され、その後細胞の増殖と併行して生成され、定常期に入るとともにピークに達している。

表-2 黄色ブドウ球菌の増殖の毒素生成
Brain heart infusion broth (BHI broth)
低温培養、35、初発pH5.5

培養時間 (h)	生菌数 log CFU/P	エンテロトキシン生成 (μ/p)	
		SEA	SEC
1	1.7	<0.10	<0.10
2	2.5	<0.10	<0.10
3	3.4	<0.10	<0.10
4	4.3	<0.10	<0.10
5	5.1	<0.10	<0.10
6	5.8	<0.10	<0.10
7	6.8	0.10	<0.10
8	7.7	0.13	<0.10
9	8.4	0.15	<0.10
10	8.9	0.20	<0.10
11	9.2	0.25	0.10
12	9.0	0.50	0.10
24	9.5	0.80	0.25
36	9.1	1.50	1.0

表-2はBHIブロースを培地として振盪培養した場合のSEA、SECの生成経過を示している。前者は生菌数6.8logCFU/pで、後者は9.2logCFU/pで検出されている。

表-3は3種の食品中でのA、B、C、Dの生成とSA生菌数との関連性を示している。

表-3 食品中でのエンテロトキシンの生成 (37)

菌株	食品	初発菌数	最終菌数	時間 (h)	エンテロトキシン
S-6	牛乳	5.9 × 10 ²	2.9 × 10 ⁵	8	-*
		1.0 × 10 ²	1.1 × 10 ⁷	14	A,B
	ポテトサラダ (マヨネーズ添加)	10 ² ~ 10 ³	7.9 × 10 ⁵	10	A
			7.9 × 10 ⁶	16	A,B
FRI-196E	牛乳	10 ¹ ~ 2	7.9 × 10 ⁵	10	A,B
			1.5 × 10 ⁶	14	-
	ポテトサラダ (マヨネーズ添加)	4.6 × 10 ³	7.8 × 10 ⁵	8	-
		1.6 × 10 ⁴	5.0 × 10 ⁵	6	A,D
FRI-913	牛乳	10 ² ~ 10 ³	5.4 × 10 ⁶	16	-
			3.5 × 10 ⁷	20	A,D
	ポテトサラダ (マヨネーズ添加)	10 ¹ ~ 10 ³	1.0 × 10 ⁵	10	-
			4.3 × 10 ⁵	10	A,D
FRI-913	牛乳	8.9 × 10 ³	2.9 × 10 ⁵	8	-
		1.4 × 10 ⁴	2.2 × 10 ⁷	9	A,C
	ポテトサラダ (マヨネーズ添加)	10 ² ~ 10 ³	1.4 × 10 ⁵	10	-
			5.1 × 10 ⁷	20	A,C
	ポイル卵白	10 ¹ ~ 10 ²	9.6 × 10 ⁵	10	-
			1.1 × 10 ⁶	14	A,C

* 0 ~ 0.1 > ng/g

以上の例より明らかなことは、毒素検出法の測定限界如何に左右されるが、SAの生菌数が10⁵ ~ 10⁶CFU/p (g)に達した場合検出されることになる。

エンテロトキシン生成量について2、3の例を次に示す。
4%NZ-アミンA + 1%酵母エキス、37、24h、振盪培養.....SEA2927 ± 139、SED251 ± 17ng/p

BHIブロー、37、24h、振盪培養.....SEA3333 ± 1.38、SED373 ± 27ng/p

クリームパイ、37、35h.....SEA81.1ng/g Home made mayonnase (pH5.0 ~ 5.8)、37、7日.....30.4ng/g

エンテロトキシントキシン生産に対して、SEA、SEDではpH7~8が最適でpH低下とともに生成が阻害される。食塩添加では10%以上で生成が阻害されるし、グルコースやグリセリンの添加も生成低下を来すといわれている。

結局栄養培地でも食品中においても、エンテロトキシンは生菌数が10⁵ ~ 10⁶CFU/p (g)に達して検出されるということが出来るが、最高生成量はかなり変動することになる。

3. エンテロトキシンの熱抵抗性

SAの生成するエンテロトキシンの熱抵抗性については、母細胞に比べて著しく大きいことは、既に1970年前後で明らかにされている。

基礎的な条件として蒸溜水、veronal緩衝液中で求められたSEA、SEBの熱抵抗特性値は表-4のごとくにまとめられている。この表より250、での不活性化時間としてF₂₅₀ = 8 ~ 62 (分)、Z値46 ~ 58、となっている。

図-2はpH7.4のリン酸緩衝液中での80、100、120

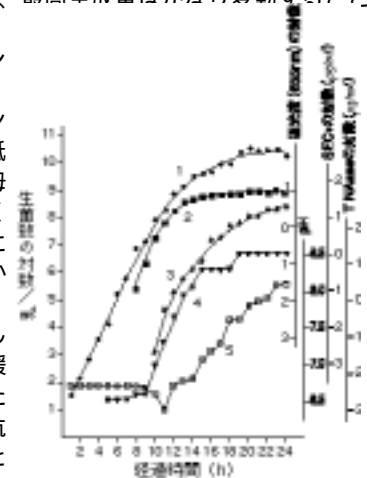


図-1. エンテロトキシンC₁ (SEC₁) とサーモヌクレアーゼ (TNAase) の生成経過
培地: N-ZamineNAK + 酵母エキス
1: 生菌数の対数 / P, 2: 吸光度の対数, 3: エンテロトキシンC₁ (SEC₁) log (μ/p), 4: サーモヌクレアーゼ (TNAase) log μ/p, 5: pH

表4 エンテロトキシンの熱抵抗特性値

毒素	毒素濃度 (ng/P)	加熱媒体	加熱温度域 (°F)	F ₂₅₀ (分)	Z値 (°F)
A	7	蒸溜水	212 ~ 250	8	46
	7			11	48
B	30	0.04Mvernal buffer (pH7.2)	204 ~ 259	16.4 ~ 19	55 ~ 58
	30		240	32.5	-
A	21	"	212 ~ 250	22	50
B	10 ~ 100	"	250 ~ 320	62	52
			320	2.8	-

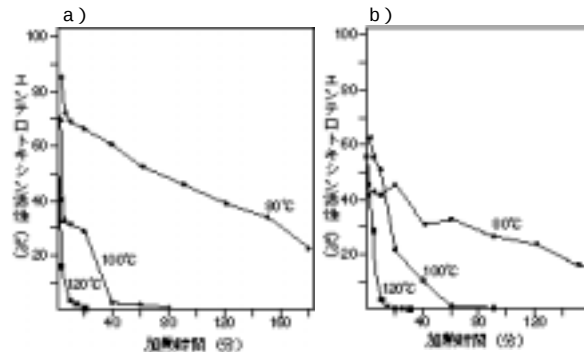


図-2 エンテロトキシンの熱安定性 (pH7.4の緩衝液)

a) SEA 初発濃度: 95 ± 5ng/P
 b) SEA 初発濃度: 105 ± 5ng/P
 c) SEA 初発濃度: 110 ± 10ng/P

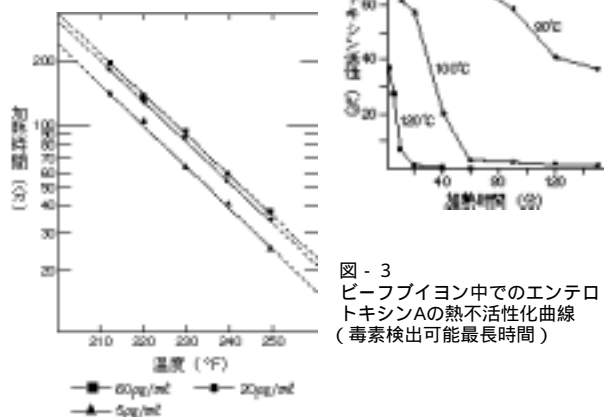


図-3 ビーフバイオン中でのエンテロトキシンの熱不活性化曲線 (毒素検出可能最長時間)

のSEA、SEB、SECの熱不活性化の経過を検討した結果である。三つの毒素は何れも120 °の温度で20分乃至40分で失活している。図-3はSEA60、20、5μ/pをビーフバイオンに添加して210 ° ~ 250,の温度域で処理した場合の毒

表5 リン酸緩衝液とビーフバイオン中でのエンテロトキシンの不活性化点の比較
加熱温度: 121.1 (250 °F)

毒素濃度 (μ/P)	0.15Mリン酸緩衝液pH7.2 (分)	ビーフバイオンpH6.2 (分)
5	5	27
20	10	37
60	12	40

素検出最長時間 - 温度関係を示す曲線であって、Z値は27.5 ~ 29.1 となっている。表-5は121.1 °におけるリン酸緩衝液とビーフバイオン中でのSEAの失活時間を比較したもので、後者の場合の方が4 ~ 5倍時間を長くする必要のあることが明らかで、バイオン成分が毒素を安定化していることになる。

図-4はSEA、図-5はSEDの210 ~ 250,の温度域での全乳中での検出最長時間関係をもとめた結果であり、尿素

処理は熱保護効果を示しているが、SEAに対するF₂₅₀ = 18分、Z49、SEDではF₂₅₀ = 19.8分、Z52,となっている。

以上の効果を総合すると牛乳やビーフバイオン中の毒素の不活性化のためには121.1 °で20分あるいはそれ以上となる。得られるZ値22 ~ 29 より超高温加熱殺菌条件 (LL牛乳で採用されている) としての140 ~ 150 °の加熱条件においても2分以上の加熱の必

要なことが計算することができる。

4. 他の食中毒細菌の生成する毒素の熱抵抗性

食中毒細菌の生成する毒素について明かにされている熱抵抗特性は次のごとくである。

B.cereus 下痢症型 65 70 75 Z (°F)
D = 7.2 4.3 1.2分 15.0

嘔吐型 126 、90分安定

C.perfringens 55 57 60
D = 88 37 4分

C.botulinum 80 、20分或は100 1 ~ 2分で失活

E.coli verotoxin 75 、50分或は80 、5分安定

*B.cereus*の嘔吐毒については126 °、90分で安定とする以外のデータの発表は見当たらない。他の中毒細菌の毒素は100 °以下の温度条件で不活性化できるということが出来る。

黄色ブドウ球菌の生成するエンテロトキシンの熱抵抗特性より、牛乳、乳製品その他の100 °以下の低温殺菌条件では勿論のこと、Long life milk製造のための超高温殺菌条件である140 ~ 150 °10秒という条件の適用によっても完全の失活はのぞめない。それは前述のように、Z値からの計算より明らか、この条件では食品の熱劣化の甚しいことが想像される。

従って黄色ブドウ球菌による食中毒の

防止のためには、菌の汚染の防止が先決である。汚染の可能性が予想される場合は、5 °以下の冷蔵、pHの低下、Awの低下、日持向上剤などの静菌手段の適用により菌数を少なくとも10⁵CFU/p (g) 以下に抑制しなければならない。

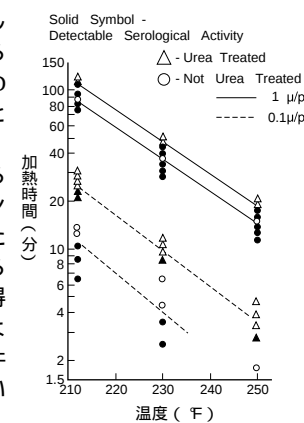


図-4 全乳中でのエンテロトキシンの熱不活性化曲線 (pH6.6)

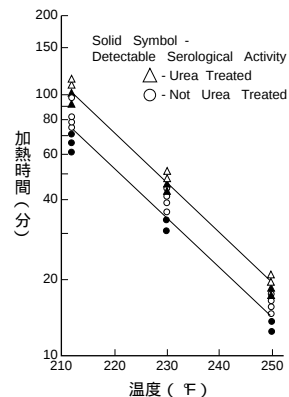


図-5 全乳中でのエンテロトキシンの熱不活性化曲線 (pH6.6)

(大阪大学名誉教授 芝崎 勲)

アサマ化成株式会社

E-mail : asm@asama-chemical.co.jp
<http://www.asama-chemical.co.jp>

本社 〒103-0001 大阪営業所 / 〒532-0011
 東京アサマ化成 / 〒103-0001
 中部アサマ化成 / 〒453-0063
 九州アサマ化成 / 〒811-1311
 桜陽化成 / 〒006-1815

東京都中央区日本橋小伝馬町20-3
 大阪市淀川区西中島5-6-13 御幸ビル
 東京都中央区日本橋小伝馬町16-5
 名古屋市中村区東宿町2-28-1
 福岡市南区横手2-32-11
 札幌市手稲区前田五条9-8-18

TEL (03) 3661-6282 FAX (03) 3661-6285
 TEL (06) 6305-2854 FAX (06) 6305-2889
 TEL (03) 3666-5841 FAX (03) 3667-6854
 TEL (052) 413-4020 FAX (052) 419-2830
 TEL (092) 582-5295 FAX (092) 582-5304
 TEL (011) 683-5052 FAX (011) 694-3061