

と畜場及び食肉処理施設の高度衛生管理による黒毛和種の賞味期限延長に関する研究

著者	中村 綾花
学位名	博士(海洋科学)
学位授与機関	東京海洋大学
学位授与年度	2021
学位授与番号	12614博甲第619号
URL	http://id.nii.ac.jp/1342/00002410/

博士学位論文要約
Summary

専攻 Major	応用生命科学専攻	氏名 Name	中村 綾花
論文題目 Title	と畜場及び食肉処理施設の高度衛生管理による黒毛和種の賞味期限延長に関する研究		

本研究では、国産和牛のチルド船便輸出を目指し、賞味期限延長のために必要な微生物学的知見の収集及び食肉加工場の高度衛生管理手法の確立を行うことを目的とした。

第2章第1節では、国産和牛を長期冷蔵条件下で保存した際の、牛肉中の微生物叢の変遷に関する基礎的知見を収集することとした。と畜直後の異なる牛3個体について(枝肉A、B及びC)、枝肉の表面をそぎ落とし、含気及び真空包装処理を行った。それらを $0\pm 2^{\circ}\text{C}$ で15週間保存し、初発及び3週間毎に菌数を測定した。更に、初発、9週目(含気包装)及び15週目(真空包装)の牛肉中の優勢菌群を同定した。その結果、牛肉の初発菌数は全ての検体において極めて低く、信頼検出限界である $1.7 \log \text{CFU/g}$ (50CFU/g)を下回った。含気包装で牛肉を保存した場合、牛肉中の菌数は保存3~6週目で初期腐敗レベルの $7 \log \text{CFU/g}$ に達し、その時の優勢菌群は *Pseudomonas sp.*であった。真空包装条件下における保存15週目の菌数は、枝肉Bでは検出限界以下、牛枝肉A及びCではそれぞれ 6.5 及び $3.5 \log \text{CFU/g}$ であり、優勢菌群はどちらも *Serratia sp.*であった。牛枝肉の初発菌数着目すると、全て信頼検出限界以下であったものの、枝肉A及びCは初期に $10\text{-}20 \text{CFU/g}$ 程度の菌の付着が確認されており、それらは全て *Serratia sp.*であった。このことから、初期の微量な菌の付着がその後の牛肉保存中の菌の挙動に大きな影響を与えることが明らかとなった。

第2章第2節では、チルド船便で輸入された豪州産牛肉について、保管温度条件が牛肉の賞味期限に与える影響を調べた。チルド船便で長期間輸送された豪州産キューブロール3検体について、 0 、 2 及び 4°C で6週間保存(含気包装または真空包装)した際の、微生物数の挙動及び微生物叢の変遷を調べた。その結果、含気包装条件では、6週間保存後の一般細菌数は、 0°C では $4.7\text{-}7.7 \log \text{CFU/g}$ 、 2°C では $8.2\text{-}10.2 \log \text{CFU/g}$ 、 4°C では $10.3\text{-}10.7 \log \text{CFU/g}$ であった。同じ枝肉由来の検体であっても保存温度の違いにより優勢となる菌群は異なる傾向が確認され、 0 及び 2°C では *Lactobacillus sp.*、 4°C では *Serratia sp.*が優勢であった。一方、真空包装条件では、6週間保存後の乳酸菌群数は、 0°C では $4.3\text{-}5.7 \log \text{CFU/g}$ 、 2°C では $6.0\text{-}6.9 \log \text{CFU/g}$ 、 4°C では $7.3\text{-}7.8 \log \text{CFU/g}$ であり、保存温度に関係なく *Lactobacillus sp.*が優勢となる傾向であった。以上より、輸送後の流通温度のわずかな違いが、豪州産牛肉中の菌数の変動と微生物の選択に影響し、賞味期限が変動する可能性が示された。

第3章では、と畜場および食肉処理施設の高度衛生管理手法の確立を目的とし、第1節では、牛のと畜・解体工程で使用される器具における好冷性微生物の分布とその残存性を調べた。飛騨食肉センターの食肉加工ライン(と畜ライン及び除骨ライン)で使用する13種類の器具類について、洗浄後にふき取り検査を行い、検体の菌数測定及び優勢菌種の同定を行った。なお、この類については刃側及び持ち手部分の二か所をふき取り、計8回ふき取り検査を行った。その結果、器具やその部位により好冷性微生物の付着率が異なっており、器具の複雑な形状が関与していると推定された。各器具に付着する微生物の優勢菌種を特定したところ、と畜ラインで使用される器具からは *Candida zeylanoides* や *Rhodotula sp.*などの酵母、*Pseudomonas sp.*や *Rhodococcus sp.*などの細菌が分離され、これらの多種多様な微生物は環境由来であることが推定された。一方で、除骨ラインからは *Pseudomonas sp.*及び *Candida zeylanoides* のみが分離された。*Pseudomonas sp.*が分離される器具は菌数が高い傾向にあり、器具表面でバイオフィルムを形成している可能性が考えられた。本研究により、洗浄処理を用いたにも関わらず、高い微生物汚染が起こる器具が特定された。器具類は直接枝肉に触れる機会が多いこと

から、枝肉に微生物汚染を広げないためにも、耐冷性酵母などを対象に含めた適切な洗浄プログラムを構築する必要があると考えられた。

第3章第2節では、牛のと畜行程において枝肉への微生物汚染がどのように進むのか調べるため、同一枝肉を対象に微生物数の経時的变化を調べた。更に、NGSを用いて各工程の器具や枝肉について、その微生物叢を網羅的に解析し、腐敗原因菌の汚染が起こる箇所を推定することとした。剥皮後(肛門結紮後)、内臓摘出後、背割り後、枝肉洗浄前及び枝肉洗浄後のタイミングで枝肉の表面を4か所ずつ(肛門周辺、モモ周辺、背割り断面、腹腔内)ふき取り、また各工程で使用する器具(デハイダー、ナイフ、背割りのこ、枝肉洗浄機、スチームバキューム)および作業員の手袋を、対象枝肉を処理した直後にふき取った。ふき取りサンプルの菌数測定の結果、枝肉表面の菌数は外側(肛門周辺、モモ周辺)の方が中側(背割り断面、腹腔内)よりも高い傾向にあった。背割り断面及び背割りのこでは腸内細菌科菌群による汚染が確認され、背割り工程ではと畜体を二分割する際に、肛門周辺から刃先が通過するため、菌が器具に付着し、それ以降の切断部位へと汚染が広がった可能性が考えられた。また、枝肉表面の菌数はと畜工程が進むにつれて減少傾向にあり、洗浄やトリミングなどの処理が適切に行われているためだと考えられた。一方で、枝肉表面及び器具の細菌叢に着目すると、と畜処理の初期工程である皮剥ぎ後の段階で、低温で増殖可能な腸内細菌科菌群や *Clostridium* 属菌などの汚染が確認された。これらの菌群は微量な付着であっても低温貯蔵中に増殖し腐敗原因となるため、枝肉への汚染を最小限に減らす必要があると考えられた。

第4章では、外部検査機関に委託し、実際の輸出を想定した条件下における国産黒毛和種の保存試験を行った。その結果、本研究に用いた飛騨牛は、160日間の保存期間を通し顕著な菌数の増加が見られず、腸内細菌科菌群、乳酸菌群、*Clostridium* 属菌及び *Listeria monocytogenes* などの菌群の増殖も確認されなかった。更に、官能試験に関してもすべてのサンプリング時点で異常は検出されなかった。これらの結果より、飛騨食肉センターでと畜・解体された牛肉は、4℃の真空条件下で160日間にわたり品質が安定していることが示され、安全係数を考慮し賞味期限を100日に延長することが決定した。

本研究では、国産和牛の賞味期限に関する微生物学的知見を収集し、更にと畜場及び食肉処理施設における微生物汚染の実態調査を行った。これにより、チルド船便輸出を試みる上で問題となる低温増殖性微生物のリスクが明らかとなり、それらの汚染が起こりやすい工程については最適な衛生管理手法を講じることで更なる賞味期限の延長が期待できると考えられる。