

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K14007

研究課題名（和文）日本の伝統食おにぎりの食中毒予防：調理施設及び家庭における食の安全性とリスク管理

研究課題名（英文）Preventing Food Poisoning of a Traditional Japanese Food, Onigiri

研究代表者

筒浦 さとみ (Tsuetsuura, Satomi)

新潟大学・自然科学系・准教授

研究者番号：20708622

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では黄色ブドウ球菌の食中毒予防を目的として、にぎり飯または米飯における本菌の増殖及び毒素産生の抑制条件について詳細に調べた。食塩や市販調味料によるにぎり飯の味付けや米飯のpH調整により、黄色ブドウ球菌の増殖や毒素産生を抑制できることを明らかにした。また、重曹や食塩の添加が高静水圧処理（高圧処理）による黄色ブドウ球菌の殺菌に与える影響についてもモデル系で調べた。重曹を添加して高圧処理を施した場合は、冷蔵で長期的に保存することで菌の増殖は抑制された。食塩では、高圧処理前ではなく、処理後に添加した場合に殺菌効果が強まる傾向があったことから、添加するタイミングが重要であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

黄色ブドウ球菌は人の常在菌であり、我々の身近に存在するが故に、人が調理・加工に携わるにぎり飯、弁当、惣菜を中心とした様々な食品で食中毒を起こす。食中毒予防には、菌が付着するリスクを想定してそれに備えられるような科学的なリスク管理とその対策を立てることが極めて重要であり、本研究で実際の調理・加工を想定した研究を行うことで食中毒の予防とリスク管理に役立てられる基礎的知見が得られた。また、黄色ブドウ球菌は耐圧性を持つ細菌であるが、その圧力耐性メカニズムは未だ明らかになっていない。本研究で得られた成果は高圧処理による微生物制御に関する科学的知見の蓄積に貢献し、学術的にも意義が大きいと考えられる。

研究成果の概要（英文）：To prevent food poisoning by *Staphylococcus aureus*, conditions that inhibit growth and enterotoxin A (SEA) production of *S. aureus* in cooked rice and rice balls were examined in detail. By the additions of sodium chloride (NaCl) and commercial seasonings or pH adjustment of cooked rice, the growth and SEA production of *S. aureus* were significantly inhibited. Also, we investigated whether the addition of sodium bicarbonate or sodium chloride (NaCl) during high-pressure processing (HPP) can effectively inhibit the growth of *S. aureus*. The addition of a high concentration of NaCl after HPP was more effective in the inhibition of *S. aureus* than before HPP.

研究分野：食品衛生学、食品科学、家政学

キーワード：黄色ブドウ球菌 にぎり飯 エンテロトキシンA (SEA) 毒素 高静水圧処理（高圧処理） 重曹（炭酸水素ナトリウム） 食塩（塩化ナトリウム）

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

黄色ブドウ球菌は人の手の常在菌であり、多くの人々が保菌している。それ故、人から直接または調理器具の汚染等の二次汚染による食中毒の発生が多く、リスクコントロールが難しい。食中毒菌が付着するリスクを想定し、それに備えられるような科学的なリスク管理とその対策を立てておくことが重要である。日本では黄色ブドウ球菌による食中毒はにぎり飯、弁当、和菓子などで多く起きることから、これらの食中毒を防ぐための基礎的研究を行う必要があった。黄色ブドウ球菌に限らず、現代の日本における食中毒発生場所は飲食店、調理施設及び家庭がほとんどであることから、本研究のような具体的な調理を想定した研究から得られた成果は他の食中毒のリスク管理にも応用されることが期待できる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、にぎり飯における黄色ブドウ球菌の増殖及び毒素エンテロトキシン A (SEA) 産生について詳細に調べ、よりよい保存条件を検討し、調理加工における汚染が起こりやすい工程を明らかにすることであった。また、新たな殺菌法の探索を目的として、モデル系で高静水圧処理(高圧処理)による黄色ブドウ球菌の殺菌についても検討し、重曹(炭酸水素ナトリウム)や食塩(塩化ナトリウム)と組み合わせた際の殺菌効果についても調べた。

3. 研究の方法

1. にぎり飯における黄色ブドウ球菌の生育と SEA 産生に対する保存条件の影響

小スケールの米飯において決定した SEA 抽出法をもとに、大スケールにスケールアップさせた際の SEA 抽出法及びにぎり飯作製条件の予備検討を行った。にぎり飯に精製 SEA を添加し、よく混ぜた後、10 g に分けて SEA を抽出した。抽出には Bovine serum albumin 溶液を用い、溶液の量及びストマッキング処理時間についても予備的に検討した。また、形、厚み、にぎり方等の調製方法を変えたにぎり飯を作製し、菌の生育等に差があるかについて比較検討を行った。これらの検討の後、本研究室保有の黄色ブドウ球菌 SEA 産生株 3 株 (C-271, C-241, C-77-L22) をそれぞれ用い、約 10^6 CFU/g になるよう植菌し、37 °C で保存した。保存後のにぎり飯の菌数を測定し、SEA を定量した。菌数測定には標準寒天培地を用いた平板培養法、SEA 定量には化学発光法による Western blot 法を用いた。

2. 米飯における食塩と市販調味料の添加、pH 調整等による黄色ブドウ球菌の生育と SEA 産生

1-7%の食塩添加または 1.5%食塩添加後に市販調味料や具材(約 80 種)をそれぞれ異なる濃度で添加した米飯と pH 4.0-6.3 になるよう酢酸で pH を調整した米飯を作製した。これらに黄色ブドウ球菌 SEA 産生株 C-271 を約 10^6 CFU/g になるように植菌し、37 °C で保存した。保存後の炊飯米の菌数を測定し、SEA を定量した。

3. にぎり飯作製時の人の手指及び着用する手袋の汚染度に関する検討

0.5~1 時間手袋着用後の手袋の内外及び人の手指の菌数を測定した。菌の検出は主に標準寒天培地を用いたグローブジュース法で行った。

4. 高圧処理による黄色ブドウ球菌の殺菌に対する炭酸水素ナトリウム (NaHCO_3) 及び塩化ナトリウム (NaCl) の影響

0.1-0.7 M NaHCO_3 添加 Brain Heart Infusion 培地に黄色ブドウ球菌 NBRC 12732 (約 10^6 CFU/mL) を植菌した後、高圧処理 (400 MPa, 10-30 分間, 室温) を施して 37 °C で 48 時間及び 10 °C で 30 日間静置保存し、菌数を測定した。0-21% NaCl 添加 BHI 液体培地に黄色ブドウ球菌懸濁液を約 10^6 CFU/mL になるように植菌し、高圧処理 (400 MPa, 10-30 分間, 室温) を施した後、37 °C で 24 時間振盪培養した。高圧処理後の黄色ブドウ球菌懸濁液に NaCl を添加したものも用意し、同様に培養して菌数を測定した。

4. 研究成果

1. にぎり飯における黄色ブドウ球菌の生育と SEA 産生に対する保存条件の影響

まず、にぎり飯における SEA 抽出及びにぎり飯作製についての予備検討を行った。いずれの抽出条件においても SEA を検出可能であった。続いて、にぎり飯の調製(形、厚み、にぎり方)に関する要因について検討したところ、いずれの方法でも菌の増殖には差がみられなかった。一方で、にぎり飯への菌の付着量や菌の付着場所などの要因においては、それらがその後の菌の増殖に影響を与えることが示唆された。これを踏まえて、決定したにぎり飯の調製法を用いて、黄色ブドウ球菌の SEA 産生株 3 株を使用し、37 °C でにぎり飯を保存した際の黄色ブドウ球菌の生育と SEA 産生を経時的に調べた。いずれの菌株でも菌は増殖し、SEA を産生した。これは米飯(小スケール)における菌の生育及び SEA 産生の結果とほぼ同様の挙動を示し(図 1)、今回決定したにぎり飯調製法ではスケールによる差はほとんどないことが明らかとなった。

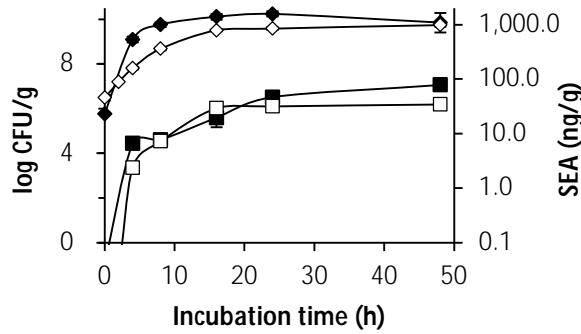


図1 にぎり飯（黒塗り）及び米飯（白抜き）における黄色ブドウ球菌の生育（○）とSEA産生（□）

2. 米飯における食塩と市販調味料の添加、pH調整等による黄色ブドウ球菌の生育とSEA産生

先の検討において、にぎり飯調製ではスケールによる差はほとんどなかったため、小スケールにて味付けにぎり飯の作製には欠かせない食塩と市販調味料やpH調整による黄色ブドウ球菌の生育及びSEA産生に対する影響を調べた。まず、食塩のみを米飯に添加し、菌の増殖及び毒素産生に対する影響を調べたところ、米飯においてSEA産生を抑制するには少なくとも3-7%の食塩を必要とすることが明らかとなった（図2）。1.5%食塩添加飯に市販調味料・具材（約80種）を組み合わせて保存した際には、食塩のみの米飯に比べて菌数の低減が認められたものは15種類であった。調味料の濃度を変えたところ、米飯のpHの低下に伴い、菌数も減少する傾向があった（図3）。米酢、バルサミコ酢、マスタード、ローズヒップティーを食塩添加飯に加え、37℃で保存した際には、いずれの市販調味料でも保存直後から12時間頃までは菌は生存し、12~24時間以降から徐々に菌数が減少した。特に、バルサミコ酢とローズヒップティーでは6日間保存してもSEAは検出限界以下であった（図4）。また、pH4.0及びpH4.5に調整した米飯では保存初期にSEA産生が抑制された。米飯への市販調味料及び具材の添加及びpH調整により、黄色ブドウ球菌の増殖及びSEA産生が効果的に抑制された。

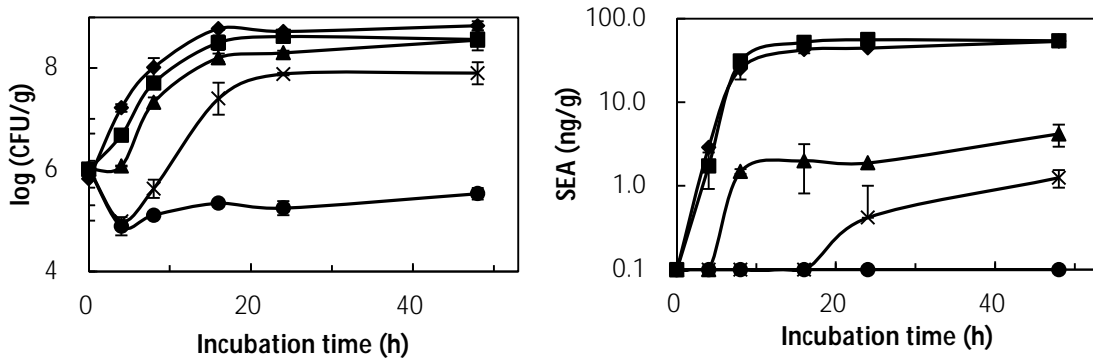


図2 NaCl添加米飯（○, 0%; □, 1%; △, 3%; ×, 5%; ●, 7%）における黄色ブドウ球菌C-271の生育（左）とSEA産生（右）

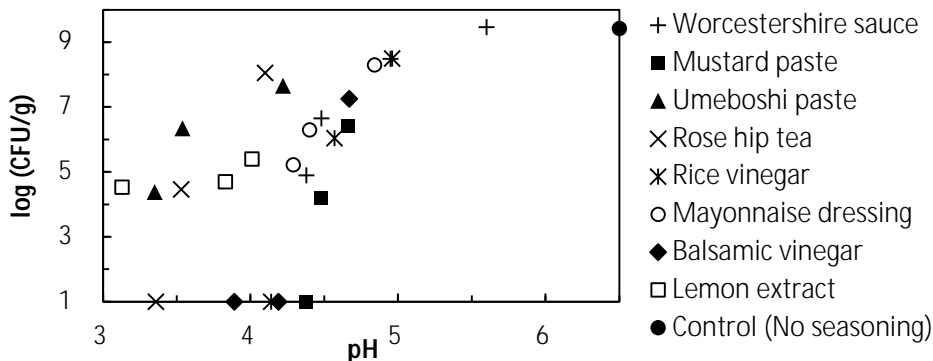


図3 1.5%食塩添加飯に異なる濃度で市販調味料を加えた際の米飯のpHと37℃で48時間保存後の黄色ブドウ球菌の菌数の関係

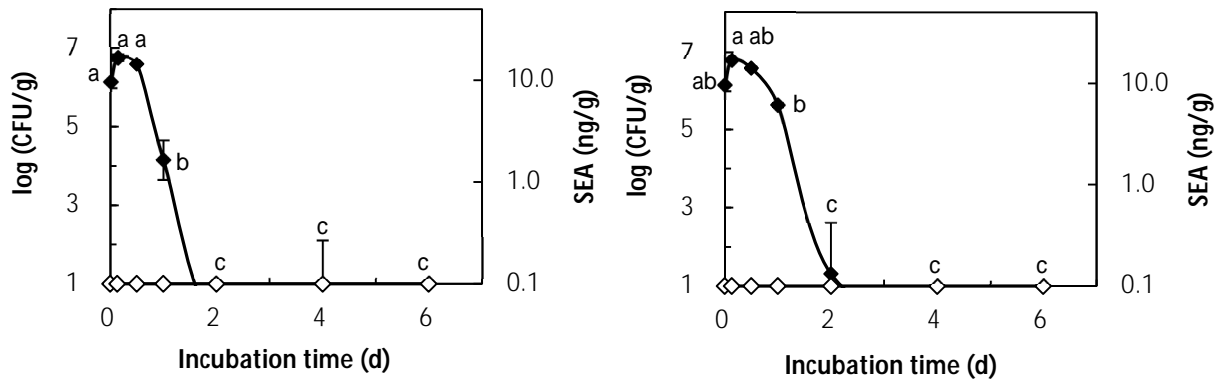


図4 バルサミコ酢（左）とローズヒップティー（右）を添加した米飯における黄色ブドウ球菌の生育（○）とSEA産生（◇）の経時的変化

3. にぎり飯作製時の人の手指及び着用する手袋の汚染度に関する検討

調理を想定し、一定時間手袋着用後の人の手指及びビニール手袋着用時の菌数調べた。手袋の内側にも手と同程度の菌の存在が認められ、使用済み手袋の取扱いや手袋着脱の仕方も食品汚染に影響を与えうる要因であると考えられた。

4. 高圧処理による黄色ブドウ球菌の殺菌に対する NaHCO_3 及び NaCl の影響

高圧処理と食品添加物の重曹や食塩を併用した場合を想定し、 NaHCO_3 または NaCl を添加した液体培地を用いて黄色ブドウ球菌に対する殺菌効果にこれらを与える影響について検討した。高圧処理直後の殺菌については NaHCO_3 の有無で影響はみられなかったものの、その後冷蔵で長期的に保存すると、 NaHCO_3 添加なしのコントロールに比べて、添加したもののほうが効果的に殺菌された。 NaHCO_3 の添加により、高圧処理の殺菌を高める効果は認められなかったものの、その後の長期的な冷蔵保存において殺菌効果が高まること明らかとなった(図5)。高圧処理前に NaCl を添加した場合には、添加なしの場合に比べ、菌が残存する傾向にあり、高圧処理による殺菌が弱まる傾向があった。一方で、高圧処理後に NaCl を添加した場合には、高圧処理前に添加したものに比べ、菌数が大幅に減少した。高圧処理による黄色ブドウ球菌の殺菌に食塩を利用するには、高圧処理前ではなく高圧処理後に添加すべきであると考えられた。

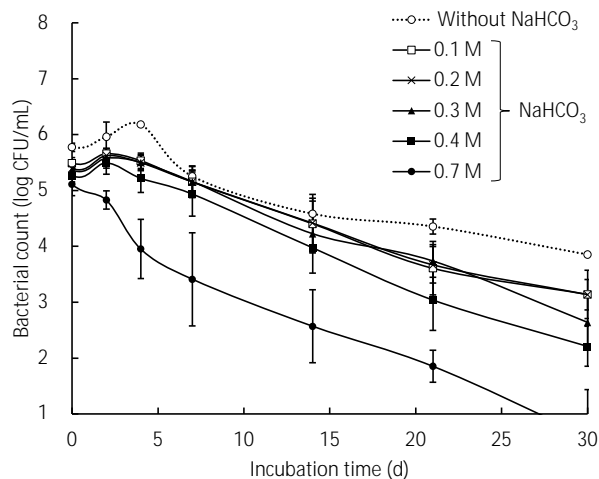


図5 400 MPa, 10 分間の高圧処理を施し、10 日で冷蔵保存した際の黄色ブドウ球菌の生菌数の経時的変化

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 筒浦さとみ、村田容常	4. 巻 73
2. 論文標題 米飯における食塩及び市販調味料の添加による黄色ブドウ球菌の増殖及びエンテロトキシンA産生制御	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本家政学会誌	6. 最初と最後の頁 262-270
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11428/jhej.73.262	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Tsuura S, Nishiumi T, Murata M	4. 巻 73
2. 論文標題 Practical measures including pH adjustment and reduction of bacterial contamination to effectively inhibit the production of staphylococcal enterotoxin A in rice balls and cooked rice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J. Home Economics, Japan	6. 最初と最後の頁 136-148
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11428/jhej.73.136	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 筒浦さとみ、西海理之	4. 巻 160
2. 論文標題 高圧食品加工技術 圧力に耐性を持つ食中毒菌を制御するための試み	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 ふーま	6. 最初と最後の頁 24-27
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 筒浦さとみ	4. 巻 45
2. 論文標題 米飯に関する食品衛生学的研究：家庭及び調理加工施設における黄色ブドウ球菌食中毒予防を目指して	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 創造	6. 最初と最後の頁 13-19
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Tsutsuura S, Kitagawa Y, Kobayashi C, Minezaki S, Murata M, Nishiumi T
2. 発表標題 Effect of sodium bicarbonate on Staphylococcus aureus during high hydrostatic pressure treatment and storage under a low temperature condition
3. 学会等名 68th International Congress of Meat Science and Technology (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tsutsuura S, Murata M
2. 発表標題 Inhibition of growth and staphylococcal enterotoxin A production by Staphylococcus aureus in cooked rice and rice balls containing sodium chloride, vinegar, and commercial seasonings
3. 学会等名 22nd IUNS-International Congress of Nutrition (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tsutsuura S, Nishiumi T, Murata M
2. 発表標題 Extending the shelf life of ready-to-eat foods by inhibition of the growth and staphylococcal enterotoxin A (SEA) production of Staphylococcus aureus.
3. 学会等名 66th International Congress of Meat Science and Technology and 73rd Reciprocal Meat Conference (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 筒浦さとみ
2. 発表標題 おいしさとSDGs 調理・加工における食品の安全とおいしさを両立することの重要性と難しさ
3. 学会等名 日本食品工学会第24回（2023年度）年次大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 西海理之、筒浦さとみ、小林千紗、喜多川優、峯崎重隆
2. 発表標題 高压処理及びその後の長期冷蔵保存中の食中毒細菌の耐圧性に対する炭酸水素ナトリウムの影響
3. 学会等名 日本食品機械工学会FOOMA Japan 2023 アカデミックプラザ
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 筒浦さとみ
2. 発表標題 食の安全を守る：食品の調理・加工と黄色ブドウ球菌の制御
3. 学会等名 令和5年度第2回日本酒学セミナー（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 筒浦さとみ、小林千紗、喜多川優、峯崎重隆、村田容常、西海理之
2. 発表標題 高压処理後の冷蔵中の黄色ブドウ球菌に対する炭酸水素ナトリウムの影響
3. 学会等名 日本家政学会第75回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 喜多川優、筒浦さとみ、峯崎重隆、村田容常、西海理之
2. 発表標題 重曹（NaHCO ₃ ）添加が高压処理による黄色ブドウ球菌の殺菌及び冷蔵環境下での増殖抑制に与える影響
3. 学会等名 第63回日本食肉科学学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 筒浦さとみ、村田容常
2. 発表標題 微生物汚染の程度が米飯における食中毒細菌及び腐敗細菌に対するグリシンと塩化ナトリウムまたは加熱との併用効果に及ぼす影響
3. 学会等名 日本家政学会第74回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 筒浦さとみ、村田容常
2. 発表標題 食塩・食酢などの市販調味料を用いた味付けのにぎり飯：家庭でのおにぎり食中毒予防の観点から
3. 学会等名 日本家政学会第73回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 筒浦さとみ、村田容常
2. 発表標題 家庭での加熱調理を想定した際の黄色ブドウ球菌の殺菌及び増殖抑制効果の検討
3. 学会等名 第68回日本栄養改善学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 筒浦さとみ
2. 発表標題 食中毒を起こさない安全な加工食品を提供するための調理加工に関する研究
3. 学会等名 第2回新潟大学・地域共創支援活動オンラインセミナー・シーズ発表会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 筒浦さとみ、村田容常
2. 発表標題 黄色ブドウ球菌のエンテロトキシンA産生及び菌体内保持能
3. 学会等名 日本食品科学工学会第66回年次大会（札幌）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------