

カタラーゼ試験を利用した焼成 ハンバーグの中心温度の推定

橋本博行*

Estimation of the internal temperature of heated hamburger steak by using catalase test

Hiroyuki Hashimoto*

キーワード

カタラーゼ試験、中心温度、大量調理施設、HACCP、ハンバーグ

I. 緒言

厚生労働省は集団給食施設等の食中毒を予防する目的で、HACCPの概念に基づく「大量調理施設衛生管理マニュアル」¹⁾を作成し、給食施設等の衛生管理を実施している。マニュアルでは、「調理の途中で適当な時間を見はからって食品の中心温度を3点以上測定し、すべての点において75℃（ノロウイルス汚染のおそれのある食品の場合は85℃）以上に達していた場合はその温度を記録するとともに、その時点からさらに1分間以上加熱を続ける。」という指導が実施されている。すなわち、ノロウイルスを除く細菌性食中毒の予防のための殺菌条件は、75℃で1分以上の加熱が必要とされている。

食品製造業では、各施設がHACCP計画を策定し工場の自主衛生管理を行っており、HACCP関連情報データベースの「ハンバーグにおけるHACCP導入の事例」²⁾では、管理基準としてハンバーグステーキ（以下、ハンバーグと記載）の中心温度が70℃以上となるように、焙焼機のコントロール装置の設定等が記載されている。したがって、HACCPの概念に基づく食中毒菌等、微生物リスクの排除の方法は、各施設の加熱設備や加工条件に合わせた殺菌条件の設定が行われている。

食品の加熱による食中毒等の死滅温度についての研究報告では、重久ら³⁾によって牛肉塊に接種したサルモネラ、大腸菌およびブドウ球菌の殺菌温度が57℃以上と報告されている。また、東京都感染症情報センターの情報⁴⁾によると、牛肉中の腸管出血性大腸菌O157の熱抵抗性は、62.8℃のD値（最初に存在している菌数を1/10の菌数に減少させるのに必要な殺菌時間）が24秒であり、サルモネラのD値が36-42秒であるとしている。したがって研究レベルでは、食中毒細菌は70℃以下の加熱で死滅するものが多いと考えられる。

*はしもと ひろゆき：大阪国際大学短期大学部教授〈2008.12.12受理〉

一方、加熱食品の中心温度の測定には、食品の中心部まで中心温度計のキリ状のセンサー一部を差し込んで温度を測定する。中心温度計には簡易なアナログ式の肉温度計やデジタル表示の温度計がある。デジタル型の温度計については、温度の感知センサーがサーミスタタイプと熱電対タイプに大別でき、精度や応答速度は熱電対タイプが優れているとされている。松田ら⁵⁾による2001年の学校給食施設で使用されている中心温度計の調査では、アナログ式で針が回転する簡易な肉温度計、デジタル型温度計、油温度計そして棒温度計などが確認されている。しかし、実際の温度より10℃以上高い温度表示をする温度計も45本中7本存在し、10℃以上高い温度表示をする温度計はすべて肉温度計であったことが報告されている。また、使用する中心温度計の機種により、温度を感知してから温度表示までの応答速度に差があることが考えられる。

本研究で報告するカタラーゼ試験は、食品衛生の現場では昆虫などの異物混入についての調査において、昆虫の混入時点が食品の製造過程の加熱前か加熱後かを推定するための簡易な試験法である^{6)~8)}。カタラーゼ試験は、動物組織や好気性微生物中に広く存在する酵素で過酸化水素(H₂O₂)を酸素と水に分解するカタラーゼ(EC 1.11.1.6 hydrogen-peroxidase: hydrogen-peroxide oxidoreductase)の酵素活性を利用する試験法で、昆虫の体内に存在するカタラーゼが食品とともに加熱された場合、カタラーゼの熱変性によりその活性を失うことを利用する。実際の検査法は、食品中の異物として取り出された昆虫に過酸化水素を滴下したとき、酸素による泡立ちが生じる場合は昆虫が加熱されていないと判定し、泡立ちが消失している場合は食品とともに加熱されたと判定するものである。

今回の報告は、食肉組織中にも存在するカタラーゼ活性が、加熱工程で失活することを利用して食肉製品の加熱温度の推定が行えるかどうかについて検討した。

しかし、食肉自体の加熱状態の確認法として、食肉中のカタラーゼ活性を活用する事例は国内ではほとんど報告されておらず、Ang.C.Y.Wら⁹⁾により鶏肉の加熱状態の検査法として、またDavis C.E.ら¹⁰⁾により牛肉とソーセージについて報告されている。

したがって本研究は、牛肉ミンチ肉と豚肉ミンチ肉中のカタラーゼ活性の消失温度の確認と、ハンバーグを事例に食肉の加熱温度とカタラーゼ活性の消失温度の確認を行うことを目的に実施した。さらに、ハンバーグの加熱状態の確認にカタラーゼ試験が活用できるかどうかについても検討した。

II. 実験方法

1. 使用機器

中心温度の測定は、クイックチェック芯温計 S N-820 [センサー 熱伝対 (S T: 銅—コンスタンタン)、応答速度約5秒 (0→100℃)、精度±0.8℃ (-50~+150℃)、(株)熱研製]で、熱電対のタイプのものを使用した。熱の感知位置は製造者への問い合わせにより、センサー部の先端から約10~15mmであることを確認した。

恒温水槽は恒温水槽 T R-1 A、アズワン (株) 製を使用した。ホットプレートは東芝ホットプレート H G K-10W H、東芝コンシューマーマーケティング (株) 製を用いた。

ホットプレートの加熱部分はフッ素樹脂加工のものであった。

2. 試薬

カタラーゼ反応の確認のための過酸化水素水は、特級の過酸化水素（30%、和光純薬工業（株）製）と市販のオキシドール（過酸化水素2.5～3.5w/v%含有、大和薬品（株）製）を使用した。

3. 牛ミンチ肉と豚ミンチ肉の加熱温度と残存カタラーゼ活性

牛ミンチ肉は宮崎県産の黒毛和牛のすね肉、豚肉は栃木県産のものをを用いた。ミンチは使用日の当日に調整したものを店舗より購入した。加工方法は、南常鉄工（株）製Ω型ミートチョッパーに3.2mmのプレートを着してミンチにしたものであった。

本実験はAng.C.Y.W.⁹⁾らの方法を参考に設定した。18×180mmのリム無し試験管に各2本、牛、豚のそれぞれのミンチ肉を10.0g入れ、底面からの高さを8～9cmになるように詰めた。試験管の上部から中心温度計を差し入れてミンチ肉の上部から2.5cm、下方に試験管壁に触れないようにセンサー部が侵入させて肉温を確認した。

加熱は恒温水槽にて各温度で10分間加温した後、10分間水冷した。さらに10分間23℃で保温後、試験管に4mlの過酸化水素水を添加してカタラーゼ活性を確認した（図1）。10分間の加熱時間は、表1に示すようにミンチ肉を69℃設定の恒温水槽に浸漬後、約8分間でその中心温度が68℃になったことから設定を行った。



図1.牛ミンチ肉の過酸化水素添加時のカタラーゼ反応
左2本: 61℃加熱 右2本: 63℃加熱

表1.牛ミンチ肉の加熱時間と中心温度

加熱時間 (分:秒)	中心温度 (℃)	
	試験管1	試験管2
0:00	18.4	16.5
0:30	20.2	19.5
1:00	29.3	28.1
1:30	39.8	39.0
2:00	47.5	46.6
2:30	54.0	53.1
3:00	58.0	57.4
4:00	62.9	62.8
5:00	65.8	65.7
6:00	67.2	67.0
7:00	67.6	67.5
8:00	68.1	68.0
9:00	68.1	67.9
10:00	68.3	68.2

試験管18×180mmに牛ミンチ肉を8～9cmの高さに詰めて恒温水槽（69℃）に浸漬

4. ハンバーグの焼成温度と残存カタラーゼ活性

実験に用いたハンバーグは、ハンバーグステーキ焼成時の内部温度に関する日本調理科学、近畿支部、焼く分科会の一連の報告^{11)～15)}を参考に設定した。

(1) ハンバーグの調整

ミンチ肉は、スーパーマーケットにて消費期限内の牛・豚合挽きミンチ肉（国産）を購入した。ミンチ肉のみを約50gとり、手袋をしてハンバーグの形状に形を整えた。生ハンバーグは20組の別々の担当者がそれぞれ3個調整し、以下の実験に用いた。

(2) カタラーゼ活性の確認方法

各加熱状態のハンバーグの1個を包丁で半分に切断し、切断面の中心部のミンチ肉を少量（肉片として4～5片）、ピンセットでシャーレに取り出した。駒込ピペットで過酸化水素水を約1ml、ミンチ肉に滴下し泡立ちの有無を確認した。泡立ちのあったものを陽性（+）、泡立ちの無いものを陰性（-）とに判定した。

泡立ちの程度については活発に発泡する場合と小さな泡がゆっくり発泡する場合があり、カタラーゼ試験に関する坂本らの報告⁷⁾では+、++、石上らの報告⁸⁾では弱陽性（1+）、中程度陽性（2+）、強陽性（3+）などの表現が用いられている。本研究では定性試験であることと、カタラーゼ試験の判定者が20組あり判定のバラツキを考慮して泡立ちのあった場合は、陽性（+）のみの判定とした。

(3) 未加熱のミンチ肉の調整

カタラーゼ試験は成型したハンバーグの1個を、(4)のハンバーグの加熱実験が終了

するまで室温で放置し、包丁で半分に切断し、切断面の中心部を少量、ピンセットでシャーレに取り出し過酸化水素水を滴下し、泡立ちの有無を確認した。

(4) 部分的な加熱状態のハンバーグの調整

ホットプレートの温度設定を160℃にして、成型したハンバーグを直接、加熱板の上ののせて加熱した。一部、ガスコンロ上でフッ素樹脂加工のフライパン上でも焼成を実施した。ハンバーグの焼成は20の試験区分でそれぞれ任意に実施した。ハンバーグは中心温度が50℃前後になるようにフライ返して裏返して表裏の両面を焼成した。

中心温度の測定は中心温度計のセンサー部を約45度の角度でハンバーグに突き刺し、中心温度計の先端から約10～15mmの感知位置がハンバーグの中心部になるようにした。温度計測時間は約5秒間以上測定した(図2)。中心温度計のセンサー部分のハンバーグへの挿入は、大島らの報告¹⁰⁾ではハンバーグに対して垂直にセンサー部分を差し込んでいたが、今回の実験では20組の調整したハンバーグの厚みに関する制限を設けなかったため、薄いハンバーグについてもより正確に中心温度を計測するために、45度前後の斜めの角度でセンサー部分をハンバーグに挿入した。

中心部の温度が50℃前後に上昇したとき、アルミホイルの上に取り出した。取り出したハンバーグは包丁で半分に切断し、カタラーゼ試験を実施した。



図2.中心温度計によるハンバーグの中心温度の測定

(5) 70℃以上の加熱を実施したハンバーグの調整

部分的な加熱状態のハンバーグの場合と同様に、160℃に設定したホットプレート上でゆるやかに加熱を行い、中心部の温度が70℃以上になった時点で、ハンバーグをアルミホイルの上に取り出し、中心部のカタラーゼ試験を実施した。安田ら¹⁰⁾のフライパンを使用したハンバーグの焼成実験では、フライパンにふたをしない場合、ハンバーグの中心温度が75℃以上にならないことが報告されている。ホットプレート上での焼成についても同様な傾向が確認されたために、本実験でもハンバーグの上にアルミホイルで簡易にふたをして焼成を実施した。

Ⅲ. 結果および考察

牛ミンチ肉と豚ミンチ肉の加熱温度と残存するカタラーゼ活性の有無について表2と表3に示した。牛肉ミンチについては表1に示すように61℃の加熱ではカタラーゼ活性は残存しているが、図2に示すように63℃では微弱な活性となった。さらに66℃以上の加熱ではカタラーゼ活性は確認できなかった。表3に示すように、豚肉のミンチ肉についても同様に64℃以上でカタラーゼ活性は消失した。したがって、牛ミンチ肉、豚ミンチ肉ともに60から65℃の間で内在するカタラーゼ活性が酵素の加熱による変性により消失することが判明した。

表2.牛ミンチ肉の中心温度と残存カタラーゼ活性

肉種	牛肉					
中心温度 (℃)	55	61	63	66	68	70
残存カタラーゼ活性 ^{※1}	+	+	+ ^{※2}	-	-	-

※1 過酸化水素を添加後、気泡の発生したものを +、気泡が発生しないものを - と判定した。

※2 気泡の発生は微弱であった。

表3.豚ミンチ肉の中心温度と残存カタラーゼ活性

肉種	豚肉			
中心温度 (℃)	54	56	59	64
残存カタラーゼ活性 ^{※1}	+	+	+	-

※1 過酸化水素を添加後、気泡の発生したものを +、気泡が発生しないものを - と判定した。

次に、ハンバーグの焼成温度と残存カタラーゼ活性に関する実験の結果を表4に示した。まず、未加熱の状態のハンバーグについてカタラーゼ試験を実施したところ、結果はすべて陽性 (+) であり、カタラーゼ活性は未加熱状態ではすべての検体に残存していた。カタラーゼは生体内で生成した過酸化水素を除去する重要な酵素である。したがって、使用するミンチ肉の部位や脂肪の含有比率によるカタラーゼ活性の差が考えられるが、今回の結果では、明確な差はなく加熱による消失の実験に使用可能と考えられた。

表4.ハンバーグの中心温度とカタラーゼ活性

加熱条件 試験No. ^{a)}	未加熱		部分的な加熱		70℃以上の加熱	
	中心 温度 (℃) ^{b)}	カタラーゼ 試験 ^{c)}	中心 温度 (℃)	カタラーゼ 試験	中心 温度 (℃)	カタラーゼ 試験
1	17	+	39	+	70	-
2	測定せず	+	53	+	77	-
3	測定せず	+	55	+	78	-
4	15.1	+	49.4	+	79.3	-
5	15	+	40	+	80	-
6	18.0	+	50.3	+	80.0	-
7	17.1	+	42.8	+	80.0	-
8	17.1	+	52.1	+	80.5	-
9	17	+	34	+	81	-
10	15.4	+	42.7	+	82.3	+ ^{d)}
11	15	+	52	+	75	-
12	17.3	+	50	+	77	-
13	14.0	+	40.2	+	77.7	-
14	16	+	53	+	78	-
15	15.0	+	47.1	+	78.5	-
16	15.5	+	49.5	+	79.5	-
17	16.2	+	57.2	+	83.1	-
18	15.9	+	52.0	+	87.0	-
19	15	+	43	+	90	-
20	15	+	53	+	80	-

- a) 試験番号について、それぞれ別のハンバーグを3個、未加熱、部分的な加熱、70℃以上の加熱を実施した。
- b) 中心温度計の先端から約10mmの位置がハンバーグの中心部にくるように約5秒間、温度を測定した。
- c) 過酸化水素を添加後、気泡の発生したものを +、気泡が発生しないものを - と判定した。
- d) 少し気泡が発生し、発生した泡が肉組織の周りに付着していた。試料採取箇所少し赤みが残る状態であった。

部分的な加熱状態のハンバーグについては、中心温度が34℃～57.2℃になっており、カタラーゼ試験の結果は全て陽性 (+) であった。ハンバーグの断面の観察結果ではハンバーグの表面は加熱変性しているが、中心部は赤みが残る状態であった。したがって、57.2℃までの加熱では、カタラーゼ活性は消失しないことが明らかとなった。

一方、ハンバーグの中心温度が70℃以上になるように焼成したハンバーグでは、その中心部のカタラーゼ試験結果については、No.10を除いて全て陰性 (-) となった。陽性となったNo.10について、切断面の観察結果を確認したところ、少し赤みが残る状態であっ

たことから中心温度の計測箇所が少し中心部よりずれていた可能性が考えられる。したがって、ハンバーグの中心温度が70℃以上に焼成した場合には、カタラーゼ活性が消失することが明らかとなった。

米食品医薬品局（FDA）や米農務省（USDA）では、腸管出血性大腸菌O157の予防の目的で食肉の加熱殺菌条件を設定している。したがって、加熱の有無の確認だけではなく食中毒菌の死滅温度も考慮して、カタラーゼ試験などの導入を検討する必要があると考えられた。

以上の結果より、ハンバーグについて63℃以下の中心部に赤みが残る状態の加熱条件と70℃以上の赤みの残らない加熱状態では、カタラーゼ反応の有無に明確な差が出るということが明らかとなった。したがって、カタラーゼ試験がハンバーグの63℃前後の加熱殺菌についての簡易な指標のひとつとなりうるのではないかと考えられた。

参考文献

- 1) 厚生労働省、大量調理施設衛生管理マニュアル（平成 9年3月24日衛食第 85号別添）（最終改正：平成 20年6月1日食安発第 0618005号）
- 2) 財団法人 食品産業センター、HACCP関連情報データベース、ハンバーグにおけるHACCP導入の事例 HYPERLINK "http://www.shokusan.or.jp/haccp/guide/3_2_31_chori_reitou.html" http://www.shokusan.or.jp/haccp/guide/3_2_31_chori_reitou.html（2008/12/12）
- 3) 重久保、中上辰芳、太治司郎、阪口玄二、牛肉塊に接種したサルモネラ・大腸菌およびブドウ球菌の殺菌、日本獣医学雑誌、47（2）、251-257、1985
- 4) 東京都感染症情報センター、腸管出血性大腸菌O157についてのQ&A HYPERLINK "<http://idsc.tokyo-eiken.go.jp/diseases/e-coli/ehcQA.html>" <http://idsc.tokyo-eiken.go.jp/diseases/e-coli/ehcQA.html>（2008/12/12）
- 5) 松田いぶき、市川博通、福村俊之、学校給食施設で使用されている中心温度計の誤差について（全国食品衛生監視員研修会優秀課題）食品衛生研究、52（7）、67-71、2002
- 6) 沼本敬直、望月敬夫、鈴木敏孝、溝口善則、大沢貞夫、不良食品（昆虫、毛髪等）の原因追求に対するカタラーゼ試験の応用について、食品衛生研究、28（1）、54-57、1978
- 7) 坂本聡、吉母修栄、藤村恵美、工藤伸一、山見智盟、畦森利義、食品の苦情処理に活用されるカタラーゼ活性反応の有効性について、食品衛生研究、48（1）、63-66、1998
- 8) 石上武、楠くみ子、保坂三継、食品に混入した虫の検査状況（平成14—18年度）とカタラーゼ試験における一考察、東京都健康安全研究センター研究年報、58、255-258、2007
- 9) Ang, C.Y.W., Liu, F., Townsend, W.E., Fung, D.Y.C., Sensitive catalase test for end-point temperature of heated chicken meat, J. Food Sc., 59（3）、494-497, 1994
- 10) Davis, C.E., Cyrus, S., Evaluation of a rapid method for measurement of catalase activity in cooked beef and sausage, J. Food Pro., 61（2）、253-256, 1998
- 11) 大島英子、樋上純子、山口美代子、殿畑操子、山本悦子、石村哲代、大喜多祥子、加藤佐千子、阪上愛子、佐々木廣子、中山伊紗子、安田直子、米田泰子、渡辺豊子、山田光江、堀越フサエ、木咲弘、ハンバーグステーキ焼成時の内部温度：腸管出血性大腸菌O157に関連して：第1報：焼成条件の違いが内部温度に及ぼす影響、日本調理科学会誌、37（4）、366-374、2004
- 12) 米田泰子、加藤佐千子、石村哲代、阪上愛子、佐々木廣子、中山伊紗子、安田直子、大喜多祥子、大島英子、殿畑操子、樋上純子、福本タミ子、山口美代子、山本悦子、渡辺豊子、山田光江、堀

カタラーゼ試験を利用した焼成 ハンバーグの中心温度の推定

越フサエ、木咲弘、ハンバーグステーキ焼成時の内部温度：腸管出血性大腸菌O157に関連して：第2報：材料および混合方法の違いが内部温度に及ぼす影響、日本調理科学会誌、32（4）、346-351、1999

- 13) 渡辺豊子、大喜多祥子、福本タミ子、石村哲代、加藤佐千子、阪上愛子、佐々木廣子、殿畑操子、中山伊紗子、樋上純子、安田直子、山口美代子、山本悦子、米田泰子、山田光江、堀越フサエ、木咲弘、ハンバーグステーキ焼成時の内部温度：腸管出血性大腸菌O157に関連して：第3報：牛肉ハンバーグの肉汁の状態から見た焼き終わりの判定、日本調理科学会誌、32（4）、288-295、1999
- 14) 大喜多祥子、石村哲代、大島英子、片寄眞木子、阪上愛子、殿畑操子、中山伊紗子、中山玲子、樋上純子、福本クミ子、細見和子、安田直子、山本悦子、米田泰子、ハンバーグステーキ焼成時の内部温度：腸管出血性大腸菌O157に関連して（第4報）：一般家庭におけるハンバーグステーキの焼成方法に関する実態調査、日本調理科学会誌、37（2）、224—233、2004
- 15) 安田直子、石村哲代、大島英子、大喜多祥子、阪上愛子、殿畑操子、中山伊紗子、樋上純子、福本タミ子、山本悦子、米山泰子、渡辺豊子、ハンバーグステーキ焼成時の内部温度：腸管出血性大腸菌O157に関連して（第5報）：フライパン使用時の場合、日本調理科学会誌、37（4）、366-374、2004