Modified Atmosphere 包装による豚挽き肉の 冷蔵における微生物叢の推移

荻原博和*・佐々木邦明*・人見隆弘*
横井秀行*・梅沢 勝正*・矢野信禮*

Effects of Modified Atmosphere Packaging on Microflora of Ground Pork during Refrigerated Storage

OGIHARA Hirokazu*, SASAKI Kuniaki*, HITOMI Takahiro*,
YOKOI Hideyuki*, UMEZAWA Katumasa* and YANO Nobuhiro*

**Department of Food Technology, College of
Agriculture & Veterinary Medicine, Nihon University
3-34-1, Shimouma, Setagaya-ku, Tokyo, 154*

Changes of viable counts and microflora of ground pork stored at 5°C for 20 days under modified atmosphere packaging with O₂, CO₂, N₂, air, vacuum, free oxygen absorber or stretch were compared. Viable counts of ground pork stored under CO₂, free oxygen absorber and vacuum packaging were 10¹ to 10⁶ CFU/g lower than those stored with O₂, N₂, air and stretch packaging. At the initial stage, the dominant microflora in ground pork were *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Acinetobacter* and Yeast. The dominant microflora in the latter stage were *Lactobacillus* for CO₂ and vacuum packaging, *Pseudomonas* for O₂, air and stretch packaging, *Lactobacillus* and *Serratia* for free oxygen absorber packaging or *Pseudomonas* and *Brochothrix* for N₂ packaging. VBN and pH values of ground pork packaged with CO₂, free oxygen absorber and vacuum on the 14th day of storage were lower than those packaged with O₂, N₂, air and stretch packaging. It was suggested that storage under CO₂, free oxygen absorber and vacuum packaging was effective to extend the microbiological shelf life of ground pork.

(Received Oct. 26, 1993)

生鮮食肉（以下、食肉）は、冷蔵下で当初の好ましい品質を長期間維持することが困難である。その保存性を向上させる方法として、バリアー性の高い包装材と不活性ガスを利用したガス置換包装等の検討が進められている。

生鮮豚肉のガス置換包装に関する報告は、多数みられる。なかでも単一のガス（酸素、二酸化炭素、窒素）を主に利用した報告では、HUFFMAN ら¹⁾、ANJANEYULU ら²⁾、GILL ら³⁾、岡山ら⁴⁾によって保存性の検討

がなされ、二酸化炭素による菌の発育抑制や保存性の延長効果が認められている。しかし、包装内を単一のガスとした保存条件下での微生物叢（以下、菌叢）の挙動についての検討は少なく、BLICKSTADT ら⁵⁾が二酸化炭素、ENFORS ら⁶⁾が二酸化炭素と窒素、LEE ら⁷⁾が窒素および真空包装における菌叢の推移を検討しているに過ぎない。

そこで、各種 Modified Atmosphere (MA) 包装が菌叢に与える影響を明らかにするために、豚胸最長筋

* 日本大学農獣医学部食品工学科 (〒154 東京都世田谷区下馬 3-34-1)

(ロース)を用い、7種類の包装すなわちガス置換包装(二酸化炭素, 酸素, 窒素), 真空包装, 脱酸素剤封入包装, 含気包装およびストレッチ包装を行い、5℃に保存して包装間の菌数および菌叢の推移を比較検討した。

実験材料および方法

1. 試料の調製

神奈川県下の卸売業者から国産の豚胸最長筋を購入後、直ちに研究室に搬入し、可及的無菌的に脂肪組織や不要な部位を除去した。これらの肉塊をチョッパーで細片とし、よく混合した後、約80gずつをハイインパクトポリスチレントレー(HIPS)に採取した。

2. 包装方法

1) 脱酸素剤封入包装 ポリ塩化ビニリデンコートポリプロピレン/ポリエチレン(KOP/PE)フィルム製袋(220×300mm)に、HIPSトレイと試料、脱酸素剤S-200と酸素検知剤(いずれも三菱瓦斯化学社製)を入れ、ヒートシーラーで密封した。

2) ガス置換包装 チャンバー式の真空包装機(MULTIVAC, ドイツ製)を用いて、KOP/PEの袋にHIPSトレイと試料を入れ、真空とした後(-1000 mbr), 高純度の二酸化炭素, 窒素または酸素をそれぞれ単独で置換封入包装した。ガスの流量は以下の条件で行った。

二酸化炭素: 50 l/min, 0.8 Kgf/cm²

窒素: 50 l/min, 0.8 Kgf/cm²

酸素: 50 l/min, 1.0 Kgf/cm²

なお、ガス置換量は水中に置換試料とシリンダーを投入し、その包装内のガスを採取し、容量を計測した。充填されたガス量は約400 mlであった。

3) 真空包装 ガス置換包装と同一の真空包装機を使用し、KOP/PEの袋にHIPSトレイと試料を入れた後、脱気(-1000 mbr)し真空包装した。

4) 含気包装 KOP/PEの袋にHIPSトレイと試料を入れた後、空気ポンプでガス置換包装とほぼ同量の空気を入れ、ヒートシーラーを用いて包装した。

5) ストレッチ包装 試料を入れたHIPSトレイを、塩化ビニール製フィルムを用い、このフィルムを引っ張り伸ばしながらトレイ全体を包装した。この包装は市販用の簡易包装である。

3. 保存方法

試料は5℃で20日間保存し、0, 2, 5, 8, 14, 20日目に試料1個ずつを取り出し、下記の方法で検査した。

4. 検査方法

試料の調製

試料10gをストマフィルター袋(ゲンゼ産業社製)に取り、0.1%ペプトン緩衝生理食塩水90 mlを加え、ストマッカー(オルガノ社製)で処理し、試料原液を調製した。さらにこの原液を適宜希釈して使用した。

1) 生菌数 Plate count agar (BBL社製)を用い、平板塗抹法により、30℃で72時間培養後、発育した集落を計測した⁸⁾。

2) 低温細菌数 Plate count agar (BBL社製)を用い、平板塗抹法により、7℃で10日間培養後、発育した集落を計測した⁹⁾。

3) 蛋白質分解菌数 Plate count agar (BBL社製)にSkin milk (Difco社製)を10%加えた培地¹⁰⁾を用い、平板塗抹法により、30℃で48~72時間培養後、発育した集落のうち、周囲に透明帯を形成したものを計測して蛋白分解菌数とした。

4) 脂肪分解菌数 トリブチリン培地¹¹⁾を用い、平板塗抹法により、30℃で48~72時間培養後、発育した集落のうち、周囲に透明帯を形成したものを計測し、これを脂肪分解菌数とした。

5) 大腸菌群数 VRBA培地(Violet Red Bile Agar, BBL社製)を用い、混釈平板法により、35℃で24時間培養し、発育した典型的な赤色集落を計測した。さらに、これらの集落については確定試験を実施した¹²⁾。

6) 菌叢解析 生菌数を計測した平板から、各試料当たり30の集落を釣菌し、これらの菌株を純粋分離した後、集落性状、色素産生、好気・嫌気適育性、グラム染色性、形態、運動性、芽胞の有無、カタラーゼ試験、チトクローム・オキシダーゼ試験、OF試験、炭水化物の分解能試験等の諸性状の結果をもとにVANDERZANTら¹³⁾、COWANら¹⁴⁾、DAINLYら¹⁵⁾、金子¹⁶⁾、BRAWNら¹⁷⁾、BUCHANANら¹⁸⁾の方法に準じて科および属レベルで同定した。さらにEnterobacteriaceaeについては善養寺ら¹⁹⁾、KRIEGら²⁰⁾の方法ならびにパイルチューブ(栄研化学社製)法に準じて同定した。これらの分離菌株の結果から菌叢のを百分率で示した。

7) pH 試料を10倍容の蒸留水でよく混ぜ合わせた後、pHメーター(堀場社製)で測定した。

8) 揮発性塩基態窒素(VBN) 衛生試験法²¹⁾に準じて測定した。

結 果

1. 冷蔵保存中の豚挽き肉の各菌数の推移

保存中の各菌数の変化を Table 1 に示した。豚挽き肉の保存当初の生菌数は 10^3 CFU/g であった。保存 5 日目の各包装の生菌数は、ストレッチ、含気、窒素置換、酸素置換包装の順で増加し、他の 3 包装では顕著な増加は認められなかった。保存 14 日目になると各包装間で生菌数の差が顕著になった。すなわち、ストレッチと

含気包装では 10^9 CFU/g、酸素置換では 10^8 CFU/g に達した。これに対し、真空包装では 10^6 CFU/g、脱酸素封入包装では 10^5 CFU/g、二酸化炭素置換包装では 10^4 CFU/g であった。

次に低温細菌数は、保存当初約 10^2 CFU/g であったものが、生菌数の変化と同様保存 2 日目以降増加が認められた。保存 8 日目にはストレッチ、含気、酸素置換包装の 3 包装で 10^7 CFU/g に増加した。他の包装では窒素置換包装が 10^6 CFU/g、真空と脱酸素封入包装が

Table 1 Changes of bacterial counts in ground pork with various packaging during storage at 5 °C
(Colony forming unit/g)

Bacterial counts	Packaging	Storage period (days)					
		0	2	5	8	14	20
Viable counts (Mesophiles)	CO ₂	3.0×10^3	3.4×10^3	2.9×10^3	4.6×10^3	3.0×10^4	6.8×10^4
	N ₂	3.0×10^3	5.5×10^3	8.6×10^4	1.7×10^6	3.3×10^7	5.3×10^7
	O ₂	3.0×10^3	3.4×10^3	4.0×10^4	1.2×10^7	8.3×10^8	4.6×10^9
	FOA*	3.0×10^3	4.0×10^3	3.3×10^3	5.3×10^3	4.8×10^5	6.2×10^6
	Vacuum	3.0×10^3	2.9×10^3	5.3×10^3	1.3×10^5	5.6×10^6	9.5×10^6
	Air	3.0×10^3	4.4×10^3	2.0×10^5	1.5×10^7	1.3×10^9	1.4×10^9
	Stretch	3.0×10^3	4.0×10^3	2.5×10^5	5.3×10^7	6.6×10^9	1.1×10^{10}
Psychrotrophic bacteria	CO ₂	9.8×10^2	1.3×10^3	8.5×10^2	1.8×10^3	1.7×10^5	7.5×10^5
	N ₂	9.8×10^2	2.7×10^3	7.1×10^4	2.1×10^6	3.0×10^7	5.8×10^7
	O ₂	9.8×10^2	2.6×10^3	9.2×10^4	1.7×10^7	1.2×10^9	5.3×10^9
	FOA	9.8×10^2	1.4×10^3	1.8×10^3	1.2×10^4	4.8×10^5	6.9×10^6
	Vacuum	9.8×10^2	1.5×10^3	3.8×10^3	9.7×10^4	5.3×10^6	1.1×10^7
	Air	9.8×10^2	1.7×10^3	9.3×10^4	1.5×10^7	1.2×10^9	1.4×10^9
	Stretch	9.8×10^2	2.4×10^3	2.0×10^5	3.7×10^7	5.2×10^9	1.1×10^{10}
Proteolytic bacteria	CO ₂	7.9×10^2	4.9×10^2	5.9×10^2	1.0×10^3	6.0×10^2	6.1×10^2
	N ₂	7.9×10^2	8.4×10^2	2.5×10^3	2.6×10^4	3.3×10^6	6.8×10^6
	O ₂	7.9×10^2	8.2×10^2	5.5×10^2	8.5×10^3	3.2×10^7	5.9×10^7
	FOA	7.9×10^2	7.1×10^2	8.5×10^2	1.0×10^3	9.9×10^4	2.1×10^6
	Vacuum	7.9×10^2	5.6×10^2	1.1×10^3	9.4×10^2	1.5×10^4	6.2×10^6
	Air	7.9×10^2	6.0×10^2	2.8×10^4	2.5×10^6	5.1×10^8	4.2×10^8
	Stretch	7.9×10^2	6.0×10^2	2.1×10^4	3.2×10^7	4.8×10^9	6.5×10^9
Lipolytic bacteria	CO ₂	6.9×10^2	5.6×10^2	4.3×10^2	1.3×10^3	1.9×10^3	1.2×10^3
	N ₂	6.9×10^2	5.2×10^2	4.2×10^4	2.7×10^6	8.0×10^7	3.7×10^7
	O ₂	6.9×10^2	6.7×10^2	1.9×10^4	1.3×10^6	2.3×10^9	4.8×10^9
	FOA	6.9×10^2	5.7×10^2	3.5×10^2	1.2×10^3	9.5×10^4	2.5×10^6
	Vacuum	6.9×10^2	5.3×10^2	6.6×10^2	4.4×10^4	1.2×10^6	4.9×10^6
	Air	6.9×10^2	6.5×10^2	7.3×10^4	8.2×10^6	1.6×10^9	1.3×10^9
	Stretch	6.9×10^2	5.0×10^2	9.1×10^4	4.5×10^7	1.3×10^{10}	1.4×10^{10}
Coliform	CO ₂	- **	-	-	-	-	-
	N ₂	-	-	-	7.7×10^2	4.8×10^5	3.2×10^6
	O ₂	-	-	1.0×10^2	2.6×10^2	1.0×10^5	7.9×10^6
	FOA	-	-	8.5×10^1	1.4×10^2	5.2×10^5	1.8×10^6
	Vacuum	-	-	-	-	9.2×10^3	1.2×10^6
	Air	-	-	1.1×10^2	1.0×10^2	3.3×10^4	7.0×10^4
	Stretch	-	-	1.6×10^2	3.7×10^2	5.8×10^2	1.1×10^6

* : Free oxygen absorber

** : Not detected

10⁴ CFU/g, 二酸化炭素置換包装では10³ CFU/g となった。二酸化炭素置換包装の低温細菌数は、保存最終日でも10⁵ CFU/gにとどまり、全包装のなかで最も低く推移した。

蛋白、脂肪分解菌数は保存当初10² CFU/gであった。保存5日目以降に両分解菌数が増加する包装がみられた。保存14日目の蛋白分解菌数は、ストレッチ包装が最も多く10⁹ CFU/g, 含気包装で10⁸ CFU/g, 次に酸素置換包装で10⁷ CFU/g, 真空と脱酸素剤封入包装が10⁴ CFU/gであった。二酸化炭素包装では蛋白分解菌数の増加は認められなかった。脂肪分解菌数もほぼ蛋白分解菌数と同様の推移を示したが、脂肪分解菌数の方がやや多い菌数で推移した。

大腸菌群は、保存当初の豚肉からは混積平板法において検出されなかった。保存5日目以降に酸素置換、脱酸素剤、含気およびストレッチ包装の4包装から検出され、保存14日目には二酸化炭素置換包装を除く6包装で10²~10⁵ CFU/g 検出された。一方、二酸化炭素置換包装では保存20日目でも大腸菌群は検出されなかった。これ以外の包装では10⁴ CFU 以上/gに増加した。

2 低温保存中の豚挽き肉の微生物叢の推移

豚挽き肉の微生物叢の推移を Table 2~8 に示した。保存当初豚挽き肉から検出された微生物は、*Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Coryneforms*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Yeast* など、特にグラム陽性菌が優勢であった。

各包装についてみると、二酸化炭素置換包装 (Table 2) では保存5日目まで当初の菌叢を保持したが、保存8日目には *Lactobacillus* が検出されるようになり、

保存14日目には93.3%を占め以後主要菌叢となった。

酸素置換包装 (Table 3) では、保存5日目以降 *Pseudomonas* と *Brochothrix* が増加した。保存20日目には *Pseudomonas* が90.0%と大勢を占めた。これに対して *Brochothrix* は一時増加したものの保存20日目には10.0%に減少した。

窒素置換包装 (Table 4) では保存5日目以降変化がみられ、*Pseudomonas* と *Brochothrix* が増加する傾向を示し、保存8日目には *Pseudomonas* が63.3%, *Brochothrix* が30.0%と大勢を占め、その後もこれら2菌属で70%以上を占めた。

脱酸素剤封入包装 (Table 5) では保存5日目以降 *Lactobacillus* が急増し、保存14日目には83.3%を占めたが、保存20日目には33.3%に減少した。腸内細菌科の *Serratia* は保存14日目に13.3%検出され、保存20日目には60.0%を占めた。

真空包装 (Table 6) も保存2日目まで当初の菌叢を示していたが、保存5日目には多くの種類の菌が検出された。また、保存8日目以降は *Lactobacillus* が増加し、保存14日目には占有率96.7%を占め、保存20日目においても80%以上と高い割合を維持していた。

含気包装 (Table 7) では保存2日目以降 *Pseudomonas* が増加し、保存8日目で占有率66.7%, 保存20日目には86.7%と優勢となった。

ストレッチ包装 (Table 8) でも酸素置換、含気包装と同様、保存期間が延長するにしたがい *Pseudomonas* が増加し、優勢となった。

3 低温保存した各包装肉の理化学的变化

豚挽き肉の pH を Table 9 に、VBN 値を Table 10

Table 2 Microfloral change of ground pork packaged with CO₂ stored at 5 °C

Organisms	Storage period (days)					
	0	2	5	8	14	20
Yeast	3 (10.0)*	5 (16.7)	2 (6.7)	4 (13.3)	-	-
<i>Micrococcus</i>	12 (40.0)	13 (43.3)	13 (43.3)	11 (36.7)	1 (3.3)	-
<i>Staphylococcus</i>	5 (16.7)	2 (6.7)	-	2 (6.7)	-	3 (10.0)
<i>Coryneforms</i>	3 (10.0)	7 (23.3)	6 (20.0)	8 (26.7)	-	-
<i>Lactobacillus</i>	-	-	-	4 (13.3)	28 (93.3)	22 (73.3)
<i>Brochothrix</i>	-	-	1 (3.3)	-	-	-
<i>Flavobacterium</i>	3 (10.0)	1 (3.3)	1 (3.3)	-	-	1 (3.3)
Enterobacteriaceae	-	-	-	-	-	-
<i>Acinetobacter</i>	4 (13.3)	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas</i>	-	-	-	1 (3.3)	-	-
Other	-	1 (3.3)	2 (6.7)	-	1 (3.3)	1 (3.3)
Unidentified	-	1 (3.3)	5 (16.7)	-	-	3 (10.0)
Total number (%)	30 (100)	30 (99.9)	30 (100)	30 (100)	30 (99.9)	30 (99.9)

* : Number (%) of isolated strains

** : Not detected

Table 3 Microfloral change of ground pork packaged with O₂ stored at 5 °C

Organisms	Storage period (days)					
	0	2	5	8	14	20
Yeast	3 (10.0)*	12 (40.0)	5 (16.7)	-	-	-
<i>Micrococcus</i>	12 (40.0)	8 (26.7)	-	-	-	-
<i>Staphylococcus</i>	5 (16.7)	1 (3.3)	-	-	-	-
Coryneforms	3 (10.0)	3 (10.0)	-	1 (3.3)	-	-
<i>Lactobacillus</i>	- **	-	2 (6.7)	8 (26.6)	2 (6.7)	-
<i>Brochothrix</i>	-	1 (3.3)	6 (20.0)	10 (33.3)	11 (36.7)	3 (10.0)
<i>Flavobacterium</i>	3 (10.0)	1 (3.3)	-	-	-	-
Enterobacteriaceae	-	-	-	-	-	-
<i>Acinetobacter</i>	4 (13.3)	1 (3.3)	-	-	-	-
<i>Pseudomonas</i>	-	-	15 (50.0)	11 (36.7)	17 (56.7)	27 (90.0)
Other	-	1 (3.3)	1 (3.3)	-	-	-
Unidentified	-	2 (6.7)	1 (3.3)	-	-	-
Total number (%)	30 (100)	30 (99.9)	30 (100)	30 (99.9)	30 (100.1)	30 (100)

* : Number (%) of isolated strains ** : Not detected

Table 4 Microfloral change of ground pork packaged with N₂ stored at 5 °C

Organisms	Storage period (days)					
	0	2	5	8	14	20
Yeast	3 (10.0)*	5 (16.7)	5 (16.7)	-	-	-
<i>Micrococcus</i>	12 (40.0)	12 (40.0)	1 (3.3)	-	-	-
<i>Staphylococcus</i>	5 (16.7)	2 (6.7)	-	-	-	-
Coryneforms	3 (10.0)	4 (13.3)	1 (3.3)	-	-	-
<i>Lactobacillus</i>	- **	-	6 (20.0)	1 (3.3)	2 (6.7)	4 (13.3)
<i>Brochothrix</i>	-	-	7 (23.3)	9 (30.0)	7 (23.3)	10 (33.3)
<i>Flavobacterium</i>	3 (10.0)	5 (16.7)	-	-	-	-
Enterobacteriaceae	-	-	-	-	-	2 (6.7)
<i>Acinetobacter</i>	4 (13.3)	-	-	1 (3.3)	-	-
<i>Pseudomonas</i>	-	-	8 (26.7)	19 (63.3)	18 (60.0)	12 (40.0)
Other	-	1 (3.3)	-	-	2 (6.7)	1 (3.3)
Unidentified	-	1 (3.3)	2 (6.6)	1 (3.3)	-	1 (3.3)
Total number (%)	30 (100)	30 (99.9)	30 (99.9)	30 (100)	30 (99.9)	30 (99.9)

* : Number (%) of isolated strains ** : Not detected

に示した。

pH 値は保存当初5.5であった。保存期間中二酸化炭素置換、脱酸素剤封入、真空包装では、pH の著しい変化はみられなかった。これに対し酸素置換、含気、ストレッチ包装では保存14日目に pH が上昇し、いずれも pH 6 以上になった。

VBN 値は各包装とも保存日数の経過にともない増加が認められ、保存14日目には含気、ストレッチ、酸素置換包装では20mg /100g を超えた。他の包装についてはいずれも20mg 以下/100g であった。

考 察

本来食肉は微生物汚染を受けやすく、腐敗しやすい食

品として知られ、その保存は、現在主に冷蔵に依存している。ここでは、冷蔵と他の要因、すなわち包装容器内の雰囲気ガスを調整することにより、保存性の延長効果を微生物学的な面から検討した。その結果6種包装の中で最も微生物の発育を抑制した包装は、二酸化炭素置換、脱酸素剤封入次いで真空包装であった。酸素および窒素置換包装では、従来のストレッチ包装や含気包装と比較しても微生物の発育抑制効果は認められなかった。

ガス置換包装のガスの影響については、HUFFMANら¹⁾が単体ガスと混合ガスを用いて豚肉を冷蔵した場合、細菌の発育抑制効果は二酸化炭素置換が最も大きく、酸素置換、窒素置換および含気包装では効果は認められなかったと報告している。今回の筆者らの結果も

Table 5 Microfloral change of ground pork packaged with free oxygen absorber stored at 5 °C

Organisms	Storage period (days)					
	0	2	5	8	14	20
Yeast	3 (10.0)*	7 (23.3)	8 (26.7)	3 (10.0)	-	-
<i>Micrococcus</i>	12 (40.0)	11 (36.7)	10 (33.3)	1 (3.3)	-	-
<i>Staphylococcus</i>	5 (16.7)	4 (13.3)	1 (3.3)	2 (6.7)	-	-
Coryneforms	3 (10.0)	2 (6.7)	-	-	-	1 (3.3)
<i>Lactobacillus</i>	- **	-	2 (6.7)	21 (70.0)	25 (83.3)	10 (33.3)
<i>Brochothrix</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Flavobacterium</i>	3 (10.0)	-	2 (6.7)	1 (3.3)	-	-
Enterobacteriaceae ***	-	-	-	-	4 (13.3)	18 (60.0)
<i>Acinetobacter</i>	4 (13.3)	2 (6.7)	-	-	-	-
<i>Pseudomonas</i>	-	2 (6.7)	4 (13.3)	1 (3.3)	-	-
Other	-	1 (3.3)	-	1 (3.3)	-	-
Unidentified	-	1 (3.3)	3 (10.0)	-	1 (3.3)	1 (3.3)
Total number (%)	30 (100)	30 (100)	30 (100)	30 (99.9)	30 (99.9)	30 (99.9)

*: Number (%) of isolated strains

**: Not detected

***: *Serratia*

Table 6 Microfloral change of ground pork packaged with vacuum stored at 5 °C

Organisms	Storage period (days)					
	0	2	5	8	14	20
Yeast	3 (10.0)*	5 (16.7)	8 (26.7)	-	-	-
<i>Micrococcus</i>	12 (40.0)	16 (53.3)	3 (10.0)	2 (6.7)	-	-
<i>Staphylococcus</i>	5 (16.7)	2 (6.7)	1 (3.3)	-	-	-
Coryneforms	3 (10.0)	3 (10.0)	-	-	-	-
<i>Lactobacillus</i>	-	-	2 (6.7)	12 (40.0)	29 (96.7)	25 (83.3)
<i>Brochothrix</i>	-	-	4 (13.3)	7 (23.3)	1 (3.3)	-
<i>Flavobacterium</i>	3 (10.0)	2 (6.7)	3 (10.0)	-	-	-
Enterobacteriaceae ***	-	-	-	-	-	4 (13.3)
<i>Acinetobacter</i>	4 (13.3)	-	3 (10.0)	1 (3.3)	-	-
<i>Pseudomonas</i>	-	2 (6.7)	3 (10.0)	6 (20.0)	-	1 (3.3)
Other	-	-	-	-	-	-
Unidentified	-	-	3 (10.0)	2 (6.7)	-	-
Total number (%)	30 (100)	30 (100.1)	30 (100)	30 (100)	30 (100)	30 (99.9)

*: Number (%) of isolated strains

**: Not detected

***: *Serratia*

HUFFMAN らと同様二酸化炭素が微生物の発育を最も抑制した。

食肉の品質を評価する方法として生菌数の測定がある。一般に生菌数が 10^7 から 10^8 CFU/g (または cm^2) に達すると同時に腐敗臭やネトの産出が認められるところから、この程度の菌数が腐敗の目安とされている^{22), 23)}。今回の結果と比較してみると、窒素置換、酸素置換、含気およびストレッチ包装では、保存8日目に菌数が 10^6 CFU/g に達したのに対し、二酸化炭素置換、脱酸素剤封入および真空包装では保存20日目でもこの数値に達しなかった。市販豚挽き肉の通常の包装形態であるストレッチ包装と比べ、これらの包装は菌数の増加抑制の点で有効と思われた。なかでも脱酸素剤封入包

装は包装中の酸素を除去するだけで食肉に存在する主要腐敗細菌の発育を確実に抑制する効果が認められた。

次に、食肉に分布する微生物叢については、屠殺後に家畜自身から汚染する中温細菌と環境から汚染する低温細菌が混在するものと考えられる。これらの細菌は冷蔵されることにより選択的な要因が加わり低温系の細菌が最終的に単一か2, 3の菌叢になると考えられる。本研究の結果でも好気条件下となるストレッチ、酸素置換および含気包装では *Pseudomonas* が主要となる傾向を示した。小久保ら²⁴⁾も豚肉を好気低温下に保存したときの菌叢を検討し、グラム陰性の *Pseudomonas* に偏ることを報告している。GARDNER ら²⁵⁾も穴の開いた包装では *Pseudomonas-Achromobacter* が90%を、

Table 7 Microfloral change of ground pork packaged with air stored at 5 °C

Organisms	Storage period (days)					
	0	2	5	8	14	20
Yeast	3 (10.0)*	7 (23.3)	6 (20.0)	1 (3.3)	-	-
<i>Micrococcus</i>	12 (40.0)	11 (36.7)	-	-	-	-
<i>Staphylococcus</i>	5 (16.7)	-	-	-	-	-
Coryneforms	3 (10.0)	9 (30.0)	-	-	-	-
<i>Lactobacillus</i>	- **	-	-	1 (3.3)	4 (13.3)	-
<i>Brochothrix</i>	-	-	4 (13.3)	7 (23.3)	4 (13.3)	4 (13.3)
<i>Flavobacterium</i>	3 (10.0)	-	2 (6.7)	-	-	-
Enterobacteriaceae	-	-	-	-	-	-
<i>Acinetobacter</i>	4 (13.3)	-	2 (6.7)	-	-	-
<i>Pseudomonas</i>	-	2 (6.7)	10 (33.3)	20 (66.7)	22 (73.3)	26 (86.7)
Other	-	1 (3.3)	4 (13.3)	-	-	-
Unidentified	-	-	2 (6.7)	1 (3.3)	-	-
Total number (%)	30 (100)	30 (100)	30 (100.1)	30 (99.9)	30 (99.9)	30 (100)

* : Number (%) of isolated strains

** : Not detected

Table 8 Microfloral change of ground pork packaged with stretch stored at 5 °C

Organisms	Storage period (days)					
	0	2	5	8	14	20
Yeast	3 (10.0)*	3 (10.0)	5 (16.7)	-	-	-
<i>Micrococcus</i>	12 (40.0)	10 (33.3)	9 (30.0)	-	-	-
<i>Staphylococcus</i>	5 (16.7)	-	-	-	-	-
Coryneforms	3 (10.0)	5 (16.7)	-	1 (3.3)	-	-
<i>Lactobacillus</i>	- **	1 (3.3)	-	1 (3.3)	-	-
<i>Brochothrix</i>	-	-	2 (6.7)	8 (26.7)	-	-
<i>Flavobacterium</i>	3 (10.0)	3 (10.0)	-	-	-	-
Enterobacteriaceae	-	1 (3.3)	-	-	-	-
<i>Acinetobacter</i>	4 (13.3)	1 (3.3)	1 (3.3)	-	-	1 (3.3)
<i>Pseudomonas</i>	-	5 (16.7)	11 (36.7)	20 (66.7)	30 (100)	29 (96.7)
Other	-	1 (3.3)	-	-	-	-
Unidentified	-	-	2 (6.7)	-	-	-
Total number (%)	30 (100)	30 (99.9)	30 (100.1)	30 (100)	30 (100)	30 (100)

* : Number (%) of isolated strains

** : Not detected

Table 9 Changes of pH value of ground pork during storage at 5 °C

packaging	Storage period (days)					
	0	2	5	8	14	20
CO ₂	5.5	5.5	5.5	5.5	5.6	5.6
N ₂	5.5	5.5	5.5	5.5	5.6	5.6
O ₂	5.5	5.5	5.5	5.5	6.3	6.9
FOA*	5.5	5.5	5.5	5.5	5.6	5.6
Vacuum	5.5	5.5	5.6	5.6	5.6	5.5
Air	5.5	5.6	5.5	5.5	6.1	6.1
Stretch	5.5	5.6	5.5	5.5	6.8	7.5

* : Free oxygen absorber

Table 10 Changes of V. B. N value of ground pork during storage at 5 °C

packaging	Storage period (days)					
	0	2	5	8	14	20
CO ₂	12.2	15.1	13.5	14.0	13.5	14.8
N ₂	12.2	14.7	13.8	13.7	17.4	19.6
O ₂	12.2	14.4	13.0	13.3	20.3	28.7
FOA*	12.2	14.1	14.0	14.2	15.3	15.5
Vacuum	12.2	14.8	12.1	13.3	14.5	16.8
Air	12.2	15.1	13.8	15.2	21.1	23.9
Stretch	12.2	15.6	13.7	15.8	21.0	71.2

* : Free oxygen absorber

次に通気性包装では83%を占め、非通気性包装では前述の2包装とは異なり *Pseudomonas-Achromobacter* が49%と少なく、これに対して *Lactobacillus* が30%の割合で検出され、通気性の良いものほど *Pseudomonas* の占める割合が高いことを報告している。いずれも *Pseudomonas* が主要菌叢を形成した包装では、pH や VBN 値が高くなり腐敗に達する時間が早い傾向が認められた。この傾向はグラム陰性桿菌が主要菌叢となるときに多くみられ、これらの菌が食肉の蛋白や脂肪を分解する作用が強いためと考えられる^{24), 26)}。これに対してグラム陽性菌の *Lactobacillus* は、蛋白や脂肪を分解する作用が弱く²⁷⁾、この違いが保存性の延長の差に現れたものと考えられた。

MA 包装の微生物叢について BLICKSTADT⁵⁾ が、二酸化炭素置換とラップ(ストレッチ)包装を比較検討している。彼らは、保存当初赤身肉にみられる微生物叢が *Micrococcus*, *Moraxella*, *Staphylococcus*, *Straptococcus* 等で占められており、これらを4℃で8日間保存したところ、ラップ包装では *Pseudomonas* が85%以上を占めたのに対し、二酸化炭素置換包装ではホモ酸酵型の *Lactobacillus* が優勢であったと報告している。

ENFORS⁶⁾ も二酸化炭素置換、窒素置換および含気包装を行い、冷蔵保存したところ、窒素置換と含気包装では *Pseudomonas* が80%以上を占めたのに対して、二酸化炭素置換包装では保存7日目には *Pseudomonas* が45%, *Acinetobacter* が30%, *Lactobacillus* が20%を占め、保存21日目には *Lactobacillus* が100%となり単一菌叢になったと報告している。二酸化炭素置換包装から検出される *Lactobacillus* は、通性嫌気性菌のため酸素の影響を受けず、*Pseudomonas* より発育に長時間を要するが、発育後にはみずから産生する酸性物質や発育阻害物質²⁹⁾ などにより、他の細菌の発育を抑制し本菌が優勢になるものと考えられる。

脱酸素剤封入包装の菌叢については、すでに筆者ら²⁹⁾ が0℃で保存した場合、保存8日目以降 *Lactobacillus* が主要菌叢となり、その後腸内細菌が優勢になることを報告している。本研究の結果も最終的には低温性の *Serratia* が主要菌叢となった。冷蔵包装食肉の菌叢が腸内細菌に偏る例として、小沢ら³⁰⁾ も真空包装した牛肉を7℃で保存した際に、Enteric bacteria (Enterobacter) が優勢になることを報告している。このような現象は包装中に酸素が存在しないか、量的にきわめて少ないことによる可能性がある。一方、脱酸素剤封入包装は二酸化炭素置換包装に次いで細菌の発育を抑制し、

二酸化炭素の場合と同様に相当期間優占種が *Lactobacillus* となるため、食肉の腐敗が押さえられたものと推察される。今後、低温性大腸菌群の *Serratia* がどの程度食肉の保存性に関与するかは検討が必要である。

細菌の発育抑制と同時に肉色も販売の重要な要素となる。特に肉の発色については、通常肉に存在するミオグロビンが酸素化されてオキシミオグロビンとなり鮮赤色を示すわけである。今回の結果からは、酸素置換が最も肉色によい効果を示したが、二酸化炭素置換、窒素置換および脱酸素剤封入包装では、酸素が存在しないためミオグロビンの酸素化が起こらず良好な赤色を示さなかった。なお二酸化炭素置換と脱酸素剤封入包装は、好気性細菌の発育抑制効果と食肉の酸化防止には有効で比較的長い保存用に適していると考えられる。ここで検討した包装の中では微生物の発育抑制効果と良好な肉色の発現に適した包装はみあたらなかった。今後は細菌の発育抑制に効果がみられる二酸化炭素と肉色の保持に有効な酸素の組み合わせのガス組成を詳細に検討することが必要と思われる。

MA 包装は、ストレッチ包装等の簡易包装に比べ、保存期間の延長や品質保持の効果を期待することができるものと考えられた。

要 約

二酸化炭素置換、窒素置換、酸素置換、真空、脱酸素剤封入、含気およびストレッチ包装した豚挽き肉を5℃に20日保存し、その間の菌数および菌叢を比較検討した。

1) 低温保存した各包装における生菌数の増加は、ストレッチ、酸素置換、含気、窒素置換、真空、脱酸素剤封入および二酸化炭素置換包装の順に顕著であった。

2) 保存当初の主要菌叢は、*Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Acinetobacter*, Yeast であった。冷蔵中の菌叢の変化は、真空、二酸化炭素置換で *Lactobacillus* が、酸素置換、含気およびストレッチ包装では *Pseudomonas* が主体を占めた。脱酸素剤封入包装では一時 *Lactobacillus* が主要となった後に *Serratia* が大勢を占めた。窒素置換包装は *Pseudomonas* と *Brochothrix* が主要となった。

3) 豚挽き肉の pH と VBN 値は、保存期間中二酸化炭素置換、脱酸素剤封入および真空包装では顕著な変化は認められず、他の包装ではいずれも保存14日目以降値が上昇した。

4) 二酸化炭素置換、脱酸素剤封入および真空包装は、他の包装に比べて保存期間を延長した。

文 献

- 1) HUFFMAN, D. L. : *J. Food Sci.*, **39**, 723 (1974)
- 2) ANJANEYULU, A. S. R. and SMIDT, H. D. : *J. Food Sci. and Technol.*, **23**, 88 (1986)
- 3) GILL, C. O. and HARRISON, J. C. L. : *Meat Sci.*, **26**, 313 (1989)
- 4) 岡山高秀・尾崎道昭・源 信介・伊藤和彦・近藤健次郎：神大農研報., **15**, 149 (1982)
- 5) BLICKSTAD, E. and MOLIN, G. : *J. Food Prot.*, **46**, 756 (1983)
- 6) ENFORS, S. - O., MOLIN, G. and TERNSTROM, A. : *J. appl. Bact.*, **47**, 197 (1979)
- 7) LEE, B. H. : *Meat Sci.*, **13**, 99 (1985)
- 8) 厚生省生活衛生局監修：食品衛生検査指針，微生物編（日本食品衛生協会，東京），p. 67 (1990)
- 9) 厚生省生活衛生局監修：食品衛生検査指針，微生物編（日本食品衛生協会，東京），p. 235 (1990)
- 10) 中西武雄：牛乳・乳製品の微生物学（地球社，東京），p. 248, (1983)
- 11) 坂崎利一・吉崎悦郎・三木寛二：新細菌培地学講座・下，（近代出版，東京），p. 132 (1988)
- 12) 厚生省生活衛生局監修：食品衛生検査指針，微生物編（日本食品衛生協会，東京），p. 79 (1990)
- 13) VANDERZANT, C. and NICKELSON, R. : *J. Milk Food Technol.*, **32**, 357 (1969)
- 14) COWAN & STEEL 著（坂崎利一訳）：医学細菌同定の手引，第2版（近代出版，東京），p. 62 (1977)
- 15) DAINTY, P. H., SHAW, B. G., HARDING, C. D. and MICHANIE, S. : Society for Applied Bacteriology Symposium Series no. 13. p. 83 Academic Press, London (1979)
- 16) 金子精一：微生物の簡易検査法，（衛生技術会，東京），p. 65 (1981)
- 17) BROWN, M. N 著，春田三佐夫・森地敏樹・矢野幸男監訳：食肉微生物学，（建帛社，東京），P. 403 (1987)
- 18) BUCHANAN, R. E. and GIBBONS, N. E. : *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Eighth edition, P. 217 The Williams & Wilkins Company, Baltimore, U. S. A. (1975)
- 19) 善養寺浩，坂井千三，寺山武，工藤泰夫，伊藤武：腸管系病原菌の検査法，（医学書院，東京），p. 24 (1985)
- 20) KRIEG, N. R. and HOLT, J. G. : *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1, Williams & Wilkins Company Baltimore / London, p. 409 (1989)
- 21) 日本薬学会編：衛生試験法注解，（金原出版，東京），p. 284 (1990)
- 22) AYRES, J. C. : *Food Res.*, **25**, 1 (1960)
- 23) 倉田 浩・坂井千三編：食品の衛生微生物検査法，（講談社，東京），P. 18 (1983)
- 24) 小久保弥太郎・梅木富士郎・春田三佐夫：食衛誌，**12**, 164 (1971)
- 25) GARDNER, G. A., CARSON, A. W. and PATTON, J. : *J. appl. Bact.*, **30**, 321 (1967)
- 26) 久保倉洋子：食衛誌，**24**, 21 (1983)
- 27) JAY, J. M. : *Modern Food Microbiology*. Fourth edition, Van Nostrand Reinhold., P. 376 (1992)
- 28) AHN, C. and STILES, M. E. : *J. appl. Bact.*, **69**, 302 (1990)
- 29) 荻原博和・水落慎吾・春田三佐夫：防菌防黴誌，**18**, 225 (1990)
- 30) 小沢総一郎・矢野幸男・高坂和久・清水潮・金子恵美子：日畜会報，**45**, 327 (1974)

(平成5年10月26日受理)