＝調 査＝

チルド船便輸出を目指した国産和牛の 賞味期限設定に向けた検証

小林 光士^{*1}・古内 功二^{*1}・小池 史晃^{*1}・
中村 綾花^{*2}・高橋 肇^{*2,†}

(^{*1}飛騨ミート農業協同組合連合会 (JA 飛騨ミート), ^{*2}東京海洋大学 食品微生物学研究室)

(受付: 令和3年3月29日)

(受理: 令和3年5月18日)

Verification of Expiration Date Determination of Japanese Black Beef Aimed at Chilled Shipping Export

Mitsushi KOBAYASHI^{*1}, Kouji FURUUCHI^{*1}, Fumiaki KOIKE^{*1},
Ayaka NAKAMURA^{*2} and Hajime TAKAHASHI^{*2,†}

^{*1} Hida Meat Agricultural Cooperative Association, 327 Yokamachi, Takayama City, Gifu 506-0047

^{*2} Laboratory of Food Microbiology, Department of Food Science and Technology, Tokyo University of Marine
Science and Technology, 4-5-7 Konan, Minato-ku, Tokyo 108-8477; [†]Corresponding author

緒 言

日本の畜産物の輸出実績は2012年より連続して増加しており、2012年の輸出額は91億円であったのに対し、2020年は593億円と過去最高であった¹⁴⁾。畜産物の輸出実績のうち、牛肉の占める割合は最も多く、2020年の牛肉の輸出額は289億円であり、全体の約49%を占めていた¹⁴⁾。農林水産省は、牛肉の輸出額を2030年までに3,600億円にまで引き上げる目標を掲げており、政府一体となってさらなる輸出拡大に取り組む方針を発表した¹⁴⁾。国産の黒毛和種は、脂肪分がマーブル状に肉中に分布しており、食感は非常に柔らかく芳醇な味わいを有する。国産和牛の取引単価は高く、日本の輸出力を強化するためには、国産和牛の輸出促進が欠かせないと言える。

一般的に、牛肉は冷凍(−18～−20℃)または冷蔵条件(−1.5～5℃)で輸出される⁴⁾。冷凍条件では、牛肉中で微生物が増殖しないため、海上輸送などの長期間の移動時間を要する安価な交通手段で輸出することができると¹⁰⁾。一方で、冷凍焼けや解凍時のドリップの発生など、牛肉の品質劣化を避けることはできない^{9, 10)}。このような品質劣化は、商品価値の低下につながるため、単

価の高い和牛の輸出にはふさわしくない。そのため、牛肉を凍結することなく運搬できる冷蔵条件が適しているといえる。しかし、冷蔵条件下では牛肉中の微生物の増殖を止めることができないため、航空輸送もしくは限られた近隣の国への海上輸送が選択肢となるが、航空輸送はコストが高く、販売戦略上デメリットが大きい。より安価に遠方の国へ国産和牛を輸出するには、冷蔵条件で船便を使用することが必須である。

期限表示のための試験方法ガイドライン〔食肉(食肉加工品(半製品)を含む。))〕内で定められている期限表示フレームでは、原料肉である牛肉を4℃かつ真空包装条件で保存する場合、その賞味期限を26日と設定することとしている¹⁷⁾。しかし、これは国内での販売形態を想定しており、海外への船便輸送を想定した場合、この賞味期限では不十分である。一方、日本へ輸入される牛肉の賞味期限は、一部の豪州産肉で140日と設定しており¹³⁾、国際的な競争力を考慮すると、海外産牛肉と同等の賞味期限を設定する必要がある。期限表示フレームの期間を超えた賞味期限を設定する場合には、出荷元でそれらを保証する実証データを取得する必要がある。

そこで本研究では、国産和牛を4℃で160日間保存し、約40日ごとに微生物検査および官能検査を行い、国産和牛が長期間の輸送に耐えうる品質を有するか検証することとした。なお、微生物検査では、牛肉の衛生指標となる腸内細菌科菌群および一般細菌数、牛肉の主な腐敗

[†] 連絡先

^{*1} ☎506-0047 岐阜県高山市八日町327

^{*2} ☎108-8477 東京都港区港南4-5-7

原因となる乳酸菌、牛肉において食品安全上重要視されるクロストリジウム属菌、*Clostridium perfringens*および*Listeria monocytogenes*を対象とした。

試料および検査方法

1. 試 料

試験に使用した牛肉検体をTable 1に示す。サンプリングは、期限表示のための試験方法ガイドライン〔食肉（食肉加工品（半製品）を含む。）〕に準拠し、以下のとおり行った。飛騨食肉センターにてと殺・枝肉へと加工された牛枝肉について、同日にと殺処理されたロットの中から、3検体の牛枝肉を選定した。検体は、ガスバリア性を有する真空包装フィルムであるクレハロンMLB（株式会社クレハ）を用いて真空包装し、4℃で1日間保管後、一般財団法人食品分析開発センター SUNATEC（以後、SUNATEC）へ送付した。その後、SUNATECにて検体を4℃で160日間保存し、約40日ごとに3点ずつサンプリングし、後述の微生物検査、TTC試験および官能検査を行った。

2. 検査方法

(1) 定性検査

・腸内細菌科菌群

生食用食肉の腸内細菌科菌群の試験法について（食安発0926第1号 平成23年9月26日）に準じた。検体25 gに9倍量の緩衝ペプトン水（栄研化学）225 mLを加えた後、37℃で18±2時間培養した。培養液1 mLをEEブイヨン(Oxoid) 10 mLに加え、37℃で24±2時間培養後、VRBG寒天平板(Oxoid)に画線塗抹した。37℃で24±2時間培養後、形成された腸内細菌科菌群の典型的な紫色のコロニーの有無を確認した。

・*Clostridium perfringens*

食品衛生検査指針(2004)を参考に実施した。検体25 gに9倍量の滅菌リン酸緩衝生理食塩水を加えて均質化したものを試料原液とした。

直接培養

試料原液10 mLを4枚の嫌気性パウチに分注し、2枚にはハンドフォード改良培地（栄研化学）を約15 mLを、残り2枚にはクロストリジア測定用培地（日水製薬）を約15 mLに加え、よく混合した。培地中に気泡が封入されないように、パウチの首の部分をシーラで溶封し、冷却凝固させた。ハンドフォード改良培地では45.0±1.0℃で24±2時間、クロストリジア測定用培地では37.0±1.0℃で24±2時間培養後、典型コロニーを確認した。

増菌培養

試料原液1 mLをチオグリコール酸培地（栄研化学）およびクックドミート培地(Oxoid)の深部に接種した。35～37℃で一晩培養した後、1白金耳量をカナマイシン含卵黄CW寒天培地（日水製薬）およびカナマイシン不含卵黄CW寒天培地（日水製薬）に接種し、37.0±1.0℃で48±3時間、嫌気培養を行い、典型コロニーを確認した。

(2) 定量検査

・一般細菌

期限表示のための試験方法ガイドライン〔食肉（食肉加工品（半製品）を含む。）〕（平成7年3月制定 社団法人日本食肉加工協会）に準じた¹⁷⁾。検体25 gに9倍量の滅菌0.1%ペプトン加生理食塩水を加えて均質化したものを試料原液とした。試料原液1 mLに滅菌0.1%ペプトン加生理食塩水9 mLを加えて10倍希釈し、5段階まで希釈した試料液を調製した。試料原液、各希釈試料液を1 mLずつ2枚の滅菌プラスチックシャーレに分注し、標準寒天培地（栄研化学）を約15 mLに加え、よく混合した。培地が凝固した後、35±1℃で48±3時間培養し、コロニー数を計測した。

・*Listeria monocytogenes*

平成26年11月28日食安発1128第2号（リステリア・モノサイトゲネスの検査について）（別紙1）リステリア・モノサイトゲネス定量試験法⁸⁾に準じ、「本試験」に相当する定量試験を実施した。検体25 gに9倍量の滅菌リン酸緩衝生理食塩水を加えて均質化し、20±2℃で1時間±5分静置培養し、損傷菌の蘇生培養を行った。その培養液1 mLをALOA培地（バイオメリュウ）3枚に分けて塗布し、典型コロニー数を計測した。

・乳酸菌

食品衛生検査指針(2004)を参考に実施した。検体25 gに9倍量の滅菌リン酸緩衝生理食塩水を加えて均質化したものを試料原液とした。試料原液1 mLに滅菌リン酸緩衝生理食塩水9 mLを加えて10倍希釈し、10段階まで希釈した試料液を調製した。試料原液、10段階まで希釈した各試料液を1 mLずつシャーレに分注し、MRS寒天培地(BD)を約15 mLに加え、よく混合した。培地が凝固した後、30±1℃で72±2時間培養し、コロニー数を計測した。

・クロストリジウム属菌

食品衛生検査指針(2004)を参考に実施した。検体25 gに9倍量の滅菌リン酸緩衝生理食塩水を加えて均質化し、70℃で20分間加熱処理を行ったものを試料原液とした。試料原液10 mLを2枚の嫌気性パウチ（三菱ガス化学）に分注し、クロストリジア測定用培地を15 mLに加え、よく混合した。培地中に気泡が封入されないように、パウチの首の部分をシーラで溶封し、冷却凝固させた。培地が凝固した後、35.0±1.0℃で24±2時間培養後、パウチ中に発育した黒色のコロニー数を計測した。

Table 1. 使用した牛枝肉検体

検体番号	個体識別番号	枝番	部位	性別	屠畜日
A	1554686467	050030左	とてもも	雄 (去勢)	2020/5/11
B	1390571361	050065左			
C	1390571361	050065右			

(3) TTC 試験

期限表示のための試験方法ガイドライン〔食肉（食肉加工品（半製品）を含む。）〕（平成7年3月制定 社団法人日本食肉加工協会）に準じた¹⁷⁾。TTC 試薬は、2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride 0.2 g を 1% 食塩水 100 mL に溶解した後、pH を 6.0~7.0 に調整し作成した。2 g の検体を小試験管に入れ、TTC 試薬を 6 mL 添加し、試験管ミキサーで攪拌した。37℃ の恒温器で 30 分間培養し、試験液が桃色~赤色になったものを陽性とした。

3. 官能検査

期限表示のための試験方法ガイドライン〔食肉（食肉加工品（半製品）を含む。）〕（平成7年3月制定 社団法人日本食肉加工協会）に準じた¹⁷⁾。官能検査は、食肉の基礎的知識を有する訓練された3名の検査員で行った。「評価項目及び評価基準」に従って、「色沢」、「外觀」、「ドリップ」および「匂い」について、総合的に異常の有無を判定し、3名中2名以上の割合で異常と評価した項目が一つ以上あった場合に陽性とした。

結果と考察

1. 定性検査

腸内細菌科菌群は 160 日間の保存期間を通して検出されなかった。腸内細菌科菌群は、主に動物の腸内などに存在し、と殺時に腸内容物や糞便を介して枝肉に付着するため、牛肉の衛生指標菌となる¹⁵⁾。特に、本菌群が陰性である場合、牛肉における食中毒の危害菌である病原性大腸菌の存在も陰性であることを証明できるため、生食用牛肉の成分規格などにも用いられており、食品衛生上重要な菌群である。Minihan らは、牛枝肉に付着する腸内細菌科菌群の分布率を報告しており、それは 97% と非常に高い¹¹⁾。また、他の報告では、15 のと殺場を対象に牛枝肉に付着する腸内細菌科菌群の分布率を調べており、最も低い分布率は 0% であったのに対し、最も高いのは 55% であった¹⁹⁾。このように腸内細菌科菌群の枝肉への分布率は、と殺場ごとに偏りが大きく、これは衛生管理を適切に行うことで、その割合を減らすことができることを示している。本研究の対象施設である JA 飛騨ミートでは、ナイフ等使用器具の適切な洗浄・殺菌方法の確立や、ふき取り検査に基づいた汚染個所の特定・洗浄など、作業者および作業環境における衛生管理を徹底している¹⁸⁾。このことから、日ごろの衛生管理手法が、腸内細菌科菌群の陰性につながった可能性が考えられた。

C. perfringens は 160 日間の保存期間を通して検出されなかった。*C. perfringens* は、動物の腸管内や土壌中に分布することから、牛のと殺時に体表または腸内容物を介し枝肉に付着する可能性がある。さらに、本菌は耐熱性を有する芽胞を形成するため、原料である牛肉が汚染されていた場合、その後の加熱を伴う調理工程で生残り、食中毒を引き起こす恐れがある。そのため、原料管

理の点においても、牛枝肉を本菌で汚染させないことが重要である。過去に、米国の The US Department of Agriculture's Food Safety and Inspection Service (USDA-FSIS) が実施した、肉製品の微生物汚染に関する大規模な分布調査では、2,000 検体の牛枝肉における *C. perfringens* の検出率は 3% であったと報告されている⁷⁾。本研究で用いた牛肉検体からは、すべてのサンプリング時点において本菌が検出されず、輸出先国に対し安全性を示す一助となると考えられた。

TTC 試験は 160 日間の保存期間を通して陰性であった。TTC (2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride) 試験とは、TTC は還元されると無色から赤色に変化することから、その原理を利用して食肉中の微生物の増殖程度（腐敗程度）を評価する方法である。期限表示のための試験方法ガイドライン内で定められている期限表示フレームの期限を超過した賞味期限を設定する場合に、その科学的根拠を証明するために指定されている微生物検査法である。本実験では、160 日間の牛枝肉の保存期間中、TTC 試験で陽性反応が見られなかったことから、牛枝肉中において微生物の顕著な増殖は確認されなかったことが示された。

2. 定量検査

・一般細菌

牛肉の初発菌数は、全ての検体において 300 CFU/g 未満であった (Table 2)。その後、枝肉 A では菌数の増殖が確認され、保存期間終了時の菌数は 4.6×10^3 CFU/g であった。一方、枝肉 B および C では菌数の増殖が確認されず、160 日間の保存期間を通して 300 CFU/g 未満であった。期限表示のための試験方法ガイドライン〔食肉（食肉加工品（半製品）を含む。）〕では、細菌数が 10^8 CFU/g に達するとき、検査結果を異常とすることとしている。このことより、本試験で使用した検体は、4℃ の真空包装条件下で、160 日間にわたり細菌数の顕著な増加が見られず、豪州の牛枝肉と匹敵する賞味期限を有していることが示された。米国などでは、と殺後の牛枝肉を次亜塩素酸ナトリウムや有機酸などで洗浄・消毒する措置が取られることが多い^{1, 2, 6)}。一方で、本試験で使用した牛枝肉は、そのような化学的処理を一切行っておらず、本試験により、と殺や枝肉加工の段階において極めて高い衛生管理がなされていることが示唆された。長期輸送の際、牛肉は一度真空包装されると、輸出先国に到着するまでその包装は一度も開封されることなく輸送される。そのため、より長い賞味期限を達成するためには、初期に牛肉に付着する菌数を極めて低くすることが重要である。本研究の対象施設である JA 飛騨ミートでは、過去にも牛枝肉および部分肉の一般細菌数について調査しており、豊福らの報告によると、2009~2011 年の間に本施設内で処理された計 1,684 検体の牛枝肉および部分肉の一般細菌数は、平均で 1.8, 0.74 log CFU/100 cm² 程度であった¹⁶⁾。実験方法やサンプリン

Table 2. 冷蔵(4℃)保存中における枝肉検体の各種細菌数測定結果

検査項目	検体番号	保存期間(日数)				
		0(初発)	40	82	120	161
一般細菌数 (CFU/g)	A	<300	6.3×10^2	2.8×10^3	2.9×10^3	5.0×10^3
	B	<300	<300	<300	<300	<300
	C	<300	<300	<300	<300	<300
クロストリジウム属 菌(CFU/g)	A	<30	<30	<30	<30	<30
	B	<30	<30	<30	<30	<30
	C	<30	<30	<30	<30	<30
乳酸菌 (CFU/g)	A	<300	<300	<300	<300	<300
	B	<300	<300	<300	<300	<300
	C	<300	<300	<300	<300	<300
<i>L. monocytogenes</i> (CFU/g)	A	<10	<10	<10	<10	<10
	B	<10	<10	<10	<10	<10
	C	<10	<10	<10	<10	<10

グ方法などに差があるため、単純に比較はできないものの、本研究においても枝肉検体の初発菌数は300 CFU/g未満と極めて低く、同様の結果が得られた。このことより、本施設でと殺・解体された牛枝肉の微生物汚染レベルは非常に少なく、長期間の冷蔵保存に耐えうる品質を保持していることが示唆された。

クロストリジウム属菌は、160日間の保存期間を通して、いずれのサンプリング時点においても30 CFU/g未満であった(Table 2)。クロストリジウム属菌は、ヒトや動物の腸内および環境中に広く分布しており、牛をと殺時に腸内容物や体表などから枝肉に付着する可能性がある。本属菌は、偏性嫌気性の芽胞形成菌であり、中でも低温増殖能を有する *C. estertheticum*, *C. gasigenes*, *C. frigoriphilum* および *C. frigidicarnis* は「Blown Pack」と呼ばれる腐敗現象を引き起こすことが多く報告されている¹⁶⁾。Blown packの主な特徴としては、ガスの発生、異臭、pH・色の変化、ドリップの発生などが挙げられ、肉の品質に深刻な影響をもたらす⁵⁾。さらに、腐敗だけでなく、クロストリジウム属は前述のとおり、*C. perfringens* や *C. botulinum* などの食中毒菌も含まれているため、食品安全の観点からも注視すべき菌群である。本実験では、牛枝肉よりクロストリジウム属菌が検出されなかったが、今後他の検体においても同様の結果が得られるのか検証していく必要があると考えられた。

乳酸菌は、160日間の保存期間を通して、いずれのサンプリング時点においても300 CFU/g未満であった(Table 2)。本菌は、環境中に広く分布しており、その中でも嫌気性条件かつ低温条件下で増殖能を有するものは、食肉の腐敗を引き起こす。乳酸菌による肉の腐敗事例は多く報告されており³⁾、その腐敗活性は高いことから、本菌の存在は賞味期限を延長するうえで大きな障壁となる。過去に、著者らは同センター内のと畜および枝肉加工ラインについて、2019～2021年にかけて洗浄後の使用器具およびラインのふき取り検査を8回行い、計320カ所において乳酸菌群の検出を試みた。しかし、す

べてのふき取り箇所において乳酸菌は検出されなかった(未発表データのため参照なし)。このことから、飛騨食肉センター内では乳酸菌の分布率が低く、そのため乳酸菌が牛枝肉に付着するリスクを抑えられていることが示された。

L. monocytogenes は、160日間の保存期間を通して、いずれのサンプリング時点においても10 CFU/g未満であった(Table 2)。*L. monocytogenes* は食肉の直接的な腐敗原因菌にはならないものの、非加熱喫食食品などでは重篤な食中毒を引き起こすため、食品衛生上重要な菌である。さらに、輸出に際しては、輸出先国の求める規格に沿う必要があり、このような病原微生物の低減を達成しなければならない。水谷らの研究では、牛枝肉30頭分および作業前の解体処理施設の作業環境について、*L. monocytogenes* の汚染実態調査を行ったところ、それぞれ26.7, 8.2%が陽性であり、一方で腸内容物や体表面からは *L. monocytogenes* が検出されなかったことより、本菌は器具表面などからの二次汚染で牛枝肉に付着することを結論づけている¹²⁾。本実験では、牛枝肉より *L. monocytogenes* の菌数は保存201日間を通して10 CFU/g未満であったが、今後も使用器具表面およびラインの洗浄を徹底し、作業環境における危害菌のリスク低減を維持することが重要であると考えられた。

3. 官能検査

すべての枝肉検体において、160日間の保存期間を通して官能検査で異常は検出されなかった(Table 3)。官能検査は、牛肉の賞味期限を決定するうえで最も重要であり、「期限表示のための試験方法ガイドライン」においても、微生物検査に加え、官能検査も行うことが定められている¹⁷⁾。牛肉の品質には微生物の増殖が大きく影響するが、それ以外に、肉自体の自己消化酵素による肉質の変化、ドリップの発生および色沢の退色なども大きく影響する。本結果より、160日間保存後の枝肉検体の品質に異常はなかったことから、長期間の輸出の耐えうる品質を保持していることが示された。

Table 3. 冷蔵(4℃)保存中における枝肉検体の官能検査結果

試験項目	検体番号	保存期間 (日)				
		0 (初発)	40	82	120	161
色沢	A	適合	適合	適合	適合	適合
	B	適合	適合	適合	適合	適合
	C	適合	適合	適合	適合	適合
外観	A	適合	適合	適合	適合	適合
	B	適合	適合	適合	適合	適合
	C	適合	適合	適合	適合	適合
ドロップ	A	適合	適合	適合	適合	適合
	B	適合	適合	適合	適合	適合
	C	適合	適合	適合	適合	適合
臭い	A	適合	適合	適合	適合	適合
	B	適合	適合	適合	適合	適合
	C	適合	適合	適合	適合	適合

本研究により、と殺直後の国産和牛を4℃の真空条件下で160日間保存した場合、微生物学的および官能検査の観点から、その品質は維持されることが示された。更に、*C. perfringens*や*L. monocytogenes*などの危害となる食中毒菌についても、すべての時点において検出限界以下であった。本研究の成果により、今後国産和牛の輸出力強化に向けた賞味期限延長の取り組み、制度化への一助となることを期待する。

文 献

- Arthur, TM., Bosilevac, JM., Nou, X., Shackelford, SD., Wheeler, TL, et al.: *Escherichia coli* O157 prevalence and enumeration of aerobic bacteria, Enterobacteriaceae, and *Escherichia coli* O157 at various steps in commercial beef processing plants. *J. Food Prot.*, **67**, 658–665 (2004)
- Bosilevac, JM., Nou, X., Barkocy-Gallagher, GA., Arthur, TM., Koohmaraie, M.: Treatments using hot water instead of lactic acid reduce levels of aerobic bacteria and Enterobacteriaceae and reduce the prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 on preevisceration beef carcasses. *J. Food Prot.*, **69**(8), 1808–1813 (2006)
- Chenoll, E., Macián, MC., Elizaguivel, P., Aznar, R.: Lactic acid bacteria associated with vacuum-packed cooked meat product spoilage: population analysis by rDNA-based methods. *J. Appl. Microbiol.*, **102**(2), 498–508 (2007)
- Coombs, CEO., Holman, BWB., Friend, MA., Hopkins, DL.: Long-term red meat preservation using chilled and frozen storage combinations: A review. *Meat Sci.*, **125**, 84–94 (2017)
- Esteves, E., Gupta, TB., Whyte, P., Brightwell, G., Bolton, D.: An investigation of the environmental niches of blown pack spoilage causing *Clostridium estertheticum* and *Clostridium gasigenes* on New Zealand beef and sheep farms. *Food Microbiol.*, **98**, (2021)
- Gill CO., Badoni M.: Effects of peroxyacetic acid, acidified sodium chlorite or lactic acid solutions on the microflora of chilled beef carcasses. *Int. J. Food Microbiol.*, **91**(1), 43–50 (2004)
- Huffman, RD.: Current and future technologies for the decontamination of carcasses and fresh meat. *Meat Sci.*, **62**(3), 285–294 (2002)
- 厚生労働省医薬食品局食品安全部長：リステリア・モノサイトゲネスの検査について。平成26年11月28日/食安発1128第2号
- Lagerstedt, Å., Enfält, L., Johansson, L., Lundström, K.: Effect of freezing on sensory quality, shear force and water loss in beef *M. longissimus dorsi*. *Meat Sci.*, **80**, 457–461 (2008)
- Leygonie, C., Britz, TJ., Hoffman, LC.: Impact of freezing and thawing on the quality of meat: Review. *Meat Sci.*, **91**, 93–98 (2012)
- Minihan, D., Whyte, P., O'Mahony, M., Collins, JD.: The effect of commercial steam pasteurization on the levels of enterobacteriaceae and *Escherichia coli* on naturally contaminated beef carcasses. *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health.*, **50**(7), 352–356 (2003)
- 水谷浩志, 佐藤博行, 鈴木輝康, 飯田 孝, 丸山 務: 枝肉における *Listeria monocytogenes* の汚染実態とその汚染源. *日獣会誌*, **46**, 343–346 (1993)
- MLA 豪州食肉家畜生産者事業団: オーストラリア産牛肉の安全性と品質 (http://www.aussiebeef.jp/b2b/wp/wp-content/uploads/2014/09/FA3-14-829-Australian-Beef-Brochure_jp_01.pdf) (2021年5月11日に利用)
- 農林水産物・食品の輸出に関する統計情報(農林水産省): (https://www.maff.go.jp/j/shokusan/export/e_info/attach/pdf/zisseki-266.pdf) (2021年3月9日に利用)
- Serraino, A., Bardasi, L., Riu, R., Pizzamiglio, V., Liuzzo, G., et al., Galletti, G., Giacometti, F., Merialdi, G.: Visual evaluation of cattle cleanliness and correlation to carcass microbial contamination during slaughtering. *Meat Sci.*, **90**, 502–506 (2012)
- Silva, AR., Paulo, EN., Sant'Ana, AS., Chaves, RD., Masaguer, PR.: Involvement of *Clostridium gasigenes* and *C. algidicarnis* in 'blown pack' spoilage of Brazilian vacuum-packed beef. *Int. J. Food Microbiol.*, **15**, 156–163 (2011)
- 社団法人日本食肉加工協会: 期限表示のための試験方法ガイドライン〔食肉(食肉加工品(半製品)を含む。)](平成7年3月制定)
- 豊福 肇, 小林光士, 下出敏樹, 牛丸藤彦, 小野寺仁ら: JA 飛騨ミートにおけるSSOP及びHACCPに基づく食品安全管理システムによる微生物制御とその微生物学的検証. *日食微誌*, **66**, 718–724 (2013)
- Zweifel, C., Fischer, R., Stephan, R.: Microbiological contamination of pig and cattle carcasses in different small-scale Swiss abattoirs. *Meat Sci.*, **78**(3), 225–231 (2008)