5℃保存豚肉における培養温度別生菌数・細菌叢の比較

佐藤善博*・金子精一*

Comparison of Viable Bacterial Count and Bacterial Flora in Pork Stored at 5°C among Temperatures of Incubation

Yoshihiro SATO and Seiichi KANEKO

Kanagawa Prefectural Public Health Laboratory, 52-2 Nakao Cho, Asahi Ku, Yokohama, Kanagawa 241

Summary

Pork was stored at low temperature (5°C). Viable bacterial count and bacterial flora were compared in this pork at given intervals when the pork was incubated at 7°, 30°, and 35°C. As a result, the following conclusions were drawn.

- 1) In the whole experimental period, except in the early stage of storage, the viable bacterial count was statistically higher in pork incubated at 7° or 30°C than in pork incubated at 35°C.
- 2) The rate of isolation of *Pseudomonas* tended to be significantly high in the sample incubated at 30°C. The rates of isolation of *Enterobacteriaceae* and *Aeromonas* showed a tendency to be significantly high in the sample incubated at 35°C.
- 3) When the bacterial flora was compared among the temperatures of incubation mesophilic bacteria seemed to be predominant in it in the early stage and psychrophilic bacteria in the other stages of storage.
- 4) From these results it was concluded that incubation at 30° or 7°C might be more suitable for the measurement of viable bacterial count and analysis of bacterial flora of pork than incubation at 35°C.

生肉の生菌数測定は、現在、公定法はなく、食品衛生検査指針（厚生省監修）¹²⁾に従って 35±1℃（48±3 時間）で培養を行うのが通例となっている。ところが生肉のように低温下で流通・保存される食品では *Pseudomonas* 等^{1,4,5,7,10,14,15,17)}の低温細菌が主体を占めるため、35℃培養では、一部の細菌の発育が抑制され、場合によっては生肉が腐敗・変敗に達しているにもかかわらず、新鮮時のような低い測定値しか得られず、また、本来の主要細菌叢が検出され

ないおそれもあり、衛生上の判断を誤る危険性が考えられる^{10,13~16)}。

そこで、これらの点を確かめるため、冷蔵保存過程における、豚肉の生菌数・細菌叢の検索結果によらず培養温度の影響を検討した。

材料と方法

1. 実験材料および条件

と畜場でと殺解体され、と殺後 2 日間を経た豚の肩ロース、内モモ、バラおよびロースロインの各部位のブロック肉 4 種類を県内の食肉処理業者から入手した。それぞれをたんぎく状に切って、各 1 片を

* 神奈川県衛生研究所
〒241 神奈川県横浜市旭区中尾町52-2

ストマッカー袋にくるみ、5℃の低温ふらん器に収め、7日間保存し、その間経日的に生菌数を測定するとともに、分離細菌の同定を行った。

2. 生菌数測定

経日的に前記各袋から実験材料を採取し、1試料とした。希釈は所定試料に滅菌0.1%ペプトン水を加え、ストマッカーで均等化処理を行い、常法¹¹⁾通り10倍希釈系列をつくり、標準寒天培地による表面塗抹法により生菌数を測定した。なお実験は2回(実験1:5月と実験2:7月)に分け、実験1は7℃・10日と30℃・5日、実験2は7℃・10日と35℃・2日の培養条件で行った。

3. 分離細菌の同定

30℃培養と35℃培養について分離細菌の同定を行った。生菌数測定を行った平板から1検体あたり無作為に10菌株を釣菌し、標準寒天平板を用い、30℃・2日間培養し純培養菌としたものについて、成書⁹⁾に従って属または科レベルまでの同定を行った。

4. 統計的検定

生菌数については、対数に変換したのち、経日的に培養温度別に2つの平均値間の差の検定(対応のあるt検定)⁹⁾を行い、細菌叢については同様にFisherの直接確率計算法による百分率の差の検定を行った。

結 果

1. 5℃保存豚肉の培養温度別生菌数の比較

図1に保存経過にともなう豚肉の生菌数の推移を示した。図の各プロットは4個の検体から得られた生菌数の幾何平均値を示している。また、表1は各保存日ごとに、培養温度間の平均値の差の検定を行った結果である。

7℃培養と30℃培養の生菌数を比較すると、開始日(0日目)以外は保存の全過程で平均値間に有意

差が認められず、生菌数の値も両者はほぼ等しかった。ところが、7℃培養と35℃培養の生菌数は、7℃の方が保存全過程で高い値を示し、統計解析でも保存2日目以降で平均値間に有意差が認められた。生菌数の絶対値の差は保存日数の増加とともに大きくなり、最終的には1オーダー以上の差となった。なお、保存最終日(7日目)には各生肉とも軽度の腐敗臭、むれ肉臭が感じられ、あきらかに初期腐敗の状態を呈した。

2. 5℃保存豚肉の培養温度別細菌叢の比較

生菌数測定後の平板から分離された細菌の同定結果を表2に示した。

総体的にみると培養温度による差が明瞭であった。30℃培養では*Pseudomonas*が主体で、保存2日目以降80%以上を占めるのに対し、35℃培養では*Enterobacteriaceae*が後半の主要細菌叢となり、保存末期には90%以上を占めた。また、*Aeromonas*が保存2～5日目にかなり高い比率で分離された。そこで、主要な菌属について、30℃と35℃培養時における分離率を比較し、表3に示した。

図1. 5℃保存豚肉の培養温度別生菌数の比較

—○— 実験1. 7℃培養 --○-- 実験2. 7℃培養
—●— 実験1. 30℃培養 --x-- 実験2. 35℃培養

表1. 図1における培養温度別生菌数の比較(t検定)

保存日数 (日)	実験 1		実験 2	
	比較内容	検定結果	比較内容	検定結果
0	7℃培養と30℃培養	※	7℃培養と35℃培養	
2	7℃ " 30℃ "		7℃ " 35℃ "	※
3	7℃ " 30℃ "		7℃ " 35℃ "	※
5	7℃ " 30℃ "		7℃ " 35℃ "	※
7	7℃ " 30℃ "		7℃ " 35℃ "	※※

※:危険率5%で有意差あり,

※※:危険率1%で有意差あり

培養温度の差により、*Pseudomonas*, *Enterobacteriaceae*, *Aeromonas*の分離率に明瞭な差が認められ、その他の菌属には統計的な差は認められなかった。

考 察

7℃培養と30℃培養の生菌数を比較すると、開始日（0日目）以外は、保存全過程で平均値間に有意差が認められず、2つの実験に時期のずれ、試料の相違等があるものの、生菌数の値も両者ほぼ等しいため、生菌数の点からみて、両培養法は同一視してよいと考えられた。ただし、保存開始日は30℃培養

のほうが高い菌数値を示し、初期汚染菌の主体が中温細菌であることを示唆していた。一般に、中温細菌は35～37℃培養、低温細菌は7℃培養が用いられているが、20～30℃培養が最も高い菌数値を示す³⁾ことからすると、30℃培養では中温細菌、低温細菌両者が発育するものと推定される。このように考えると、保存初期は中温細菌がやや多く、それ以後は低温細菌が主体であることが推定される。7℃培養と35℃培養の生菌数を比較すると、保存7日目、即ち、腐敗臭を感じ、明らかに初期腐敗の状況を呈している時点での7℃培養の生菌数は $10^7/g$ を超え、ほぼ $10^8/g$ に達し、Ayres¹⁾、小久保ら¹⁰⁾の報告に一致

表2. 豚生肉の保存（5℃）にともなう細菌叢の推移、培養温度別

菌 属 名	30℃培養					35℃培養				
	保存0	2	3	5	7日	保存0	2	3	5	7日
<i>Pseudomonas</i>	19	32	38	34	33	11	7	6	4	1
<i>Acinetobacter</i>	3	2	0	0	0	2	2	0	0	0
<i>Moraxella</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
<i>Flavobacterium</i>	3	0	0	0	0	6	1	0	0	0
<i>Vibrio</i>	1	1	0	0	0	2	1	2	1	0
<i>Aeromonas</i>	0	0	0	0	0	2	17	10	7	0
<i>Enterobacteriaceae</i>	2	0	1	1	2	10	10	20	28	39
<i>Micrococcus</i>	4	1	0	0	0	1	1	1	0	0
<i>Streptococcus</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Lactobacillus</i>	0	0	0	3	3	0	0	0	0	0
<i>Corynebacterium</i>	3	2	0	1	0	3	1	0	0	0
<i>Microbacterium</i>	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
<i>Bacillus</i>	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0
yeast	4	1	0	0	0	2	0	0	0	0
合 計	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40

表3. 30℃および35℃培養時における主な菌属の分離率比較

菌 属 名	比較内容	保存日数(日)				
		0	2	3	5	7
<i>Pseudomonas</i>	30℃培養と35℃培養	***	***	***	***	***
<i>Enterobacteriaceae</i>	30℃ " 35℃ "	* **	***	***	***	***
<i>Aeromonas</i>	30℃ " 35℃ "	***	***	***		
<i>Micrococcus</i>	30℃ " 35℃ "					
<i>Flavobacterium</i>	30℃ " 35℃ "					
<i>Corynebacterium</i>	30℃ " 35℃ "					
yeast	30℃ " 35℃ "					

*：危険率5％で有意差あり，***：危険率1％で有意差あり

したが、35℃培養の菌数値は1オーダー以上も低い結果を示した。海外においては、食肉における生菌数測定が通常20℃培養によって行われている^{2,6)}。しかし、保健所等の一般の検査室では低温ふらん器をもたない所が多いので、この温度を維持することが困難であることと、20～30℃の培養温度の範囲で生菌数が最も高い値を示すというBrown (1982)³⁾の指摘とを考慮し、著者は培養温度としてBrownの上限30℃を実験に用いることにした。30℃であれば一般のふらん器でどうにか恒温を維持できるし、培養日数も20℃より短くてすみ、実用的と思われる。以上の諸点を考慮すると、生肉の生菌数測定による衛生評価は、35℃より30℃あるいは7℃培養の方が良いと考えられる。特に、30℃培養は中・低温細菌両者の和を測定できるので理想と思われる。

細菌叢についてみると、30℃培養では主要菌叢は*Pseudomonas*で占められ、従来の報告^{1,4,5,7,10,15,17)}と一致した結果を示したが、35℃培養ではそれが*Enterobacteriaceae*および*Aeromonas*で占められている。*Enterobacteriaceae*、*Aeromonas*の2者は活性も強く、生肉の腐敗・変敗の原因菌¹⁰⁾となり得るが、反面、35℃培養では*Pseudomonas*の分離率が保存時間が長くなるにともない減少しており、低温貯蔵の生肉の腐敗・変敗に関与する重要な細菌である*Pseudomonas*が検出され難い35℃培養を用いることは検討の余地があろう。また、保存初期の細菌叢の構成比率（特にグラム陽性菌の比率）や、保存後期の*Enterobacteriaceae*の分離率が高いことは、従来の報告^{1,4,5,7,10)}と多少異なる点が見られたが、これは入手した生肉がと殺解体直後のものでないこと、入手までの過程でかなり高い汚染を受けた可能性があること等の理由が考えられる。

要 約

豚肉を低温（5℃）に保存し、7℃、30℃および35℃培養における生菌数・細菌叢を経日的に比較し、次の結論を得た。

1) 生菌数は、保存の初期を除き、全過程で7℃および30℃培養菌数が35℃培養菌数より有意に高い値を示した。

2) 30℃培養では*Pseudomonas*の分離率が、35℃培養では*Enterobacteriaceae*と*Aeromonas*の比率が有意に高い傾向を示した。

3) 培養温度別に菌数を比較したところ、保存初期は中温細菌、それ以後は低温細菌が主体であるこ

とが推定された。

4) 以上のことから、豚肉の生菌数測定、細菌叢解析には、35℃培養より30℃培養、あるいは7℃培養が良いと思われる。

文 献

- 1) Ayres, J. C. : Temperature relationships and some other characteristics of the microbial flora developing on refrigerated beef. Food Res. , 25, 1-18, 1960.
- 2) Blankenship, L. C. et al. : Comparison of the microbiological quality of inspection-passed and fecal contamination-condemned broiler carcasses. J. Food Sci. , 40, 1236-1238, 1975.
- 3) Brown, W. H. : Meat microbiology. 388-390, Appl. Sci. Pub. , London, 1982.
- 4) Gardner, G. A. : The aerobic flora of stored meat with particular reference to the use of selective media. J. Appl. Bact. , 28, 252-264, 1965.
- 5) Gardner, G. A., Carson, A. W. and Patton, J. : Bacteriology of prepacked pork with reference to the gas composition within the pack. J. Appl. Bact. , 30, 321-333, 1967.
- 6) Juven, B. J. and Gertshovki, R. : The effect of salting on the microbiology of poultry meat. J. Milk Food Technol. , 39, 13-17, 1976.
- 7) 金子精一：肉および肉製品に存在する微生物 (I). 神奈川県衛生研年報, 18, 106-127, 1968.
- 8) 金子精一：微生物の簡易検査法. 65-84, 衛生技術会, 東京, 1981.
- 9) 金子精一：微生物検査データの統計処理. 40-60, 衛生技術会, 東京, 1983.
- 10) 小久保弥太郎, 梅木富士郎, 春田三佐夫：豚生肉を汚染する低温細菌に関する研究. 食衛誌, 12, 164-169, 1971.
- 11) 厚生省環境衛生局監修：食品衛生検査指針(I). 103-106, (社)日本食品衛生協会, 東京, 1973.
- 12) 厚生省環境衛生局監修：食品衛生検査指針(II). 353, (社)日本食品衛生協会, 東京, 1978.
- 13) 久保倉洋子：生肉の生菌数測定法の検討. 食衛誌, 24, 7-13, 1983.
- 14) 久保倉洋子：生肉由来細菌の発育温度域の検討と同定. 食衛誌, 24, 14-20, 1983.
- 15) 小川益男ら：食品細菌定量方法（5・25・37℃

- 培養法)の比較に関する衛生学的研究. 食品衛生研究, 18, 302-311, 1968.
- 16) 高橋正弘, 沢田 敦, 金子精一: 食肉における培養温度別生菌数の比較. 獣医科学と統計利用, No.10, 25-29, 1983.
- 17) Wolin, E. F., Evans, J. B. and Nieven, C. F. JR.: The microbiology of fresh and irradiated beef. Food Res., 22, 682-686, 1957.