スライス牛肉の pH 値, 細菌数, メトミオグロビン生成量 および脂質酸化に及ぼす真空とフラッシュガス 置換包装の影響†

岡山高秀*・六車三治男**・村上新一***・山田裕一***

Effect of Two Modified Atmosphere Packaging Systems on pH Value,
Microbial Growth, Metmyoglobin Formation and Lipid
Oxidation of Thin Sliced Beef

(Studies on Modified Atmosphere Packaging of Thin Sliced Beef Part I)

Takahide OKAYAMA*, Michio MUGURUMA**, Shinichi MURAKAMI***
and Hirokazu YAMADA***

* Faculty of Agriculture, Kobe University, 1-1 Rokkodai-cho, Nada-ku, Kobe 657

** Faculty of Agriculture, Kyushu University, 6-10-1, Hakozaki, Higashi-ku, Fukuoka 812

*** Showa Denko K. K., 13-9 Shiba Daimon 1-Chome, Minato-ku, Tokyo 105

This study was conducted to determine the effect of two modified atmosphere packaging systems with and without vacuum treatment on storage quality characteristic of thin sliced beef stored at 5°C. Thin sliced beef was packaged in atmospheres of: (A) air without gas flush treatment (control), (B) 20% CO₂ + 80% O₂ after vacuum treatment and (C) 20% CO₂ + 80% O₂ without vacuum treatment. After 0, 2, 4, 6 and 8 days of storage, each sample was evaluated for pH value, microbial growth, metmyoglobin (MetMb) formation, lipid oxidation (TBA number). The pH value of the control was significantly higher than those of (B) and (C) samples after 8 days of storage. The viable and psychrotrophic bacterial counts and the number of coliforms of (B) and (C) samples were less than those of the control during storage. The control, (B) and (C) samples attained a MetMb level of 20% after 3, 5 and 6 days of storage, respectively. At 6 days of storage, MetMb formation of (C) sample was significantly lower than that of the control, but the difference in the results of the control and (B) sample could not be regarded as significant. Although the TBA numbers of (B) and (C) samples were higher than those of the control, both samples maintained a TBA number of 3.0 even after 6 days of storage. These results suggested that the differences in pH value, microbial growth, lipid oxidation of vacuum between samples with and without vacuum treatment were not recognized significantly, but the rate of MetMb formation may be different between them during storage.

(Received Aug. 3, 1994)

近年、包装材料と包装機械の発展に伴い、わが国においてもスライス牛肉のガス置換包装商品が次第に定着化

しつつある。ガス置換包装したスライス牛肉商品の賞味期間 (Shelf life) の延長がかなり確実に認められ、さら

† スライス牛肉のガス置換包装に関する研究 (第1報)

* 神戸大学農学部 (〒657 神戸市灘区六甲台町 1-1)

** 九州大学農学部 (〒812 福岡市東区箱崎 6-10-1)

*** 昭和電工(株) (〒105 東京都港区芝大門 1-13-9)

にスーパーマーケットのセントラル包装方式が進むにつれ、今後益々普及するもの¹⁾²⁾と期待されている。

牛肉のガス置換包装に関する多くの研究から、色調に関して、高濃度の酸素条件下においてはオキシミオグロビン (MbO₂) の鮮赤色の状態を維持することにより、褐色のメトミオグロビン (MetMb) の生成を抑制し、良い色調を保ち^{3)~5)}、細菌数に関して、炭酸ガスは細菌の増殖を抑制する効果を有し、特にグラム陰性菌に対する静菌効果の強いことが報告^{6)~8)}されている。現在、使用されているガス置換包装の方法には、次の二つの方法がある。すなわち、ガス置換前に一度チャンバー内の空気を脱気した後、装着されたノズルから目的のガスを充填する、真空ガス置換包装と、巻取フィルムより袋を作り、試料を入れ目的のガスを吹き込みながら空気を排除しヒートシールする、フラッシュガス置換包装である。上記の二つの異なったガス置換方法で包装した試料の種々の変化を比較・検討した報告はほとんどない。今日、市場に流通しているコンシューマーパックの条件下で、しかも、わが国での販売形態に多い非常に薄いスライス牛肉についてのガス置換包装に関する報告は非常に少ない⁹⁾¹⁰⁾。本報告の目的は、一般市場ですでに流通しているのと同じのガス置換包装条件下で、スライス牛肉の pH 値、細菌数、メトミオグロビン生成量および脂質酸化に及ぼす二つの異なったガス置換の方法である、真空とフラッシュガス置換包装の影響につき検討することである。

実験方法

1. 実験材料および包装

屠殺後 3 日間常法で冷却したホルスタイン種去勢牛 (約 22 カ月齢) から腿部位 (約 8.5 kg) を採取し、クレハ

ロンフィルムで真空包装し、1℃で 8 日間熟成した後、厚さ 2 mm にスライスした。得られた試料約 120 g を発泡ポリスチレンのトレイ (200×125×30 mm) に盛り付け、以下の 3 つの方法で包装した。(A) ストレッチ包装 (対照) はテラオカ製ラッパ AW-2600 で行った。この包装は含気包装ともいわれ、試料は空気に晒されている。(B) チャンバー式・真空ガス置換包装：本実験では、古河製作所 (株) 製自動真空包装機 FVS II にガスノズルを装着した包装機械を用い、チャンバーに直結した真空ゲージが 76cmHg に到達後、10 秒間真空にし、目的のガスを充填した。(C) 横ピロー式・フラッシュガス置換包装：本実験では、(株)川島製作所製 KBF-7000 横型製袋充填機を用い、ガスフラッシュは 60 l/min で行った。包装材料はストレッチ包装には理研ビニル製ラップフィルム MAT-LN を使用した。本フィルムの特性は高い透明性で商品価値を上げることにある。ガス置換包装には昭和電工製 EVOH 系フィルムアロマー VL を使用した。本フィルムの特性は高いガスバリアー性 [10 cc/m²・24 hr・atm (25℃)], 防湿性 [15 g/m²・24 hr・atm (37℃・90% RH)] とチルド温域 (0-3℃) における防曇性にある¹¹⁾。ガス組成は牛肉のガス置換包装に一般に用いられている 20% CO₂+80% O₂ とした⁴⁾¹⁰⁾¹²⁾。各包装試料は 5℃で 0, 2, 4, 6, 8 日間貯蔵後、以下の分析に供した。

2. 分析方法

(1) pH 値

試料挽き肉に倍量の蒸留水を加えホモジナイズし、得られたホモジネートにつき日立-堀場 F-7 ss pH メーターで測定した。

(2) 細菌数

牛肉試料から出来るだけ無菌的に試料を採取し、滅菌

Table 1 Changes in pH of the thin sliced beef during storage

Storage time (days)	pH*		
	Control	20%CO ₂ +80%O ₂ Vacuum treatment	20%CO ₂ +80%O ₂ Flush treatment
0	5.50±0.04	5.50±0.04	5.50±0.04
2	5.49±0.03	5.49±0.02	5.47±0.03
4	5.49±0.07	5.50±0.04	5.47±0.03
6	5.44±0.10	5.45±0.09	5.45±0.09
8	5.58±0.09 ^{a**}	5.41±0.08 ^b	5.44±0.08 ^b

* Mean (N=5) ± Standard deviation

** Within the same horizontal line, values with different superscript are significantly different (P<0.05)

リン酸緩衝液を加えホモジナイズした。これを原液とし混釈培養法により生菌数、低温細菌数、大腸菌群の測定を常法¹³⁾により行った。培地はいずれも日水製薬(株)製で生菌数には標準寒天培地、低温細菌数にはCVT寒天培地、大腸菌群にはデスオキシコーレイト培地である。

(3) MetMb 生成量

MetMbの生成量はTROUTの方法¹⁴⁾により測定し、MetMb生成量パーセントで表した。すなわち、牛肉試料から筋漿画分を調製し、得られた筋漿画分の525, 572, 730 nmの吸光度を測定し、その吸光度の値から算出した。

(4) 脂質酸化

脂質酸化は試料のTBA numberをTARLADGISらの方法¹⁵⁾により測定した。すなわち、試料から得られた蒸留液に2-チオバルビツール酸を反応させ、反応液の538 nmの吸光度を測定した。得られた値から、肉1000 g中のマロナルデヒド mg 数で表した。なお、実験は5回繰り返し、測定結果の統計処理は分散分析を行い、平均値の差の検定にはFISHERの多重比較法を用いた。

Fig. 1 Changes in viable bacterial count of thin sliced beef during storage

○—○, control; ■—■, 20% CO₂ + 80% O₂ after vacuum treatment; ●—●, 20% CO₂ + 80% O₂ after flushed with the gas of the same composition

*Significantly different from the vacuum and the flush treatment samples (P < 0.05)

結果および考察

1. pH 値の変化

各包装試料の貯蔵中における pH 値の変化を Table 1 に示した。貯蔵 6 日目まで、真空ガスの 4 日目を除き、すべて 0 日の値より低い値が得られた。しかし、対照は貯蔵 8 日目には pH 値が上昇し、次に述べる生菌数の増加の結果からも、腐敗現象が始まっていることが示唆された。一方、ガス置換試料は 8 日目まで低い値を保ち、対照より有意 (P < 0.05) に低いことが認められた。今回、その原因の追究は行っていないが、この差異は対照とガス置換包装試料における細菌叢の違い¹⁶⁾や炭酸ガスの試料水分中への溶解¹⁷⁾などの影響が考えられる。貯蔵中における pH 値の変化に真空とフラッシュガス置換包装による差異は認められなかった。

2. 細菌数の変化

各包装試料の貯蔵中における生菌数の変化を Fig. 1 に示した。食肉の場合、生菌数 10⁷/g がその賞味期間の限界で、10⁸/g レベルを越えると腐敗現象が生じるといわれている¹⁸⁾。本実験では、対照で 3 日目、ガス置換包

Fig. 2 Changes in psychrotrophic bacteria of thin sliced beef during storage

○—○, control; ■—■, 20% CO₂ + 80% O₂ after vacuum treatment; ●—●, 20% CO₂ + 80% O₂ after flushed with the gas of the same composition

*Significantly different from the vacuum and the flush treatment samples (P < 0.05)

装試料では6日目までは 10^7 /gを保持したが、対照では6日目には 10^8 /gに達した。貯蔵4日目を除き、ガス置換試料においてすべて対照より有意($P<0.05$)に低い値が認められた。低温細菌数と大腸菌群の変化はFigs. 2と3に示した。その結果、低温細菌数と大腸菌群ともにガス置換包装試料では貯蔵中低く抑制されたが、対照ではほぼ直線的に増加する傾向が認められた。特に、低温細菌の増殖はガス置換包装試料において著しく抑制された。この原因は、これまで報告^{6)~8)}されているようにグラム陰性菌に対する炭酸ガスの静菌効果が発揮されたものと思われる。細菌数の変化に真空とフラッシュガス置換包装による差異はいずれも認められなかった。

3. MetMb 生成量の変化

各包装試料の貯蔵中におけるMetMb生成量の変化をFig. 4に示した。MetMb生成量は対照で3日目、真空ガス置換包装試料では5日目、フラッシュガス置換包装試料で6日目で約20%に達した。肉塊表面のMetMb生成量20%程度が色調の面からの棚持ち寿命の限界といわれている¹⁹⁾。先に、横山²⁰⁾は屠殺10日後のホルスタイン去勢牛肉を小売用に本実験と同一のガス組成で真

空ガス置換包装とストレッチ包装(対照)を行い、5℃に貯蔵し、肉色の評価を行った。その結果、対照は貯蔵3日目頃から肉色が急速に変化したのに対し、真空ガス置換包装試料では貯蔵7日目頃から肉色の変化が認められたと報告し、今回の結果とほぼ一致した。さらに、OKAYAMA²¹⁾は牛ロース(厚さ1.5 cm)を4℃、本実験と同一のガス組成の気相下で貯蔵し、MetMb生成量は13日間、20%以下であったと報告した。今回の結果との差異は屠殺からの日数、試料の部位・厚さ、貯蔵温度などの条件の違いに起因しているものと考えられる。貯蔵6日目においてMetMb生成量は対照の52.1%±23.2に対して、真空ガス置換試料は32.8%±12.1、フラッシュガス置換試料は22.4%±8.3を示した。対照と真空ガス試料との間に有意差は認められなかったが、対照とフラッシュガス試料の間には有意差が認められた。その原因について今回追究していないが、真空脱気時に牛肉試料表面に内部の肉汁が滲出するとの観察もあり、それらのことがMbをメト化しやすい条件を引き起こしているのかもしれない。さらに、メト化には酸素分圧が大きく影響する²²⁾ので、真空脱気処理が牛肉試料の酸素分圧に何

Fig. 3 Changes in coliform group of thin sliced beef during storage

○—○, control; ■—■, 20% CO₂ + 80% O₂ after vacuum treatment; ●—●, 20% CO₂ + 80% O₂ after flushed with the gas of the same composition

*Significantly different from the vacuum and the flush treatment samples ($P<0.05$)

Fig. 4 Changes in metmyoglobin formation of thin sliced beef during storage

○—○, control; ■—■, 20% CO₂ + 80% O₂ after vacuum treatment; ●—●, 20% CO₂ + 80% O₂ after flushed with the gas of the same composition

*Significantly different from the vacuum and the flush treatment samples ($P<0.05$)

**Significantly different from the flush treatment sample ($P<0.05$)

等かの影響を及ぼしたのかもしれない。さらに、貯蔵 0 日と 8 日目の筋漿画分の吸収スペクトルの結果を Fig. 5 に示した。貯蔵 0 日試料において典型的な Mb のスペクトル²³⁾を示す 582 と 544 nm のピークが、いずれの試料においても貯蔵 8 日目にはかなり減少した。一方、630 nm 付近の吸光度は貯蔵日数の経過に伴って増加し、貯蔵中に MbO₂ の一部が酸化し MetMb を生成したことを示している。また、582 と 544 nm における吸光度は、いずれも真空ガス置換包装よりフラッシュガス置換包装

の試料の方が値は高く MbO₂ の酸化は抑制されたことを示している。これらの結果から、MetMb 生成量は真空とフラッシュガス置換包装によって違いが生じる可能性が示唆された。

4. 脂質酸化の変化

各包装試料の貯蔵中における TBA number の変化を Fig. 6 に示した。TBA number 値は貯蔵期間中、高酸素条件下にあるガス置換包装試料において対照より平均値で高い値が得られた。しかし、貯蔵 6 日目における TBA

Fig. 5 Absorption spectra of myoglobin from thin sliced beef during storage

0, 0 day sample ; C8, Control after 8 days of storage ; V8, 20% CO₂+80% O₂ after vacuum treatment after 8 days of storage ; F8, 20% CO₂ +80% O₂ after flushed with the gas of the same composition after 8 days of storage

Fig. 6 Changes in TBA number (malonaldehyde mg/1000 g meat) of thin sliced beef during storage

○—○, control; ■—■, 20% CO₂ + 80% O₂ after vacuum treatment; ●—●, 20% CO₂ + 80% O₂ after flushed with the gas of the same composition

number 値は対照の 2.2 ± 0.9 に対して両ガス置換包装試料では 3.0 ± 1.3 , 8 日目では対照の 3.1 ± 1.4 に対して, 真空ガス置換包装の試料は 4.7 ± 2.0 , フラッシュガス置換包装の試料は 4.2 ± 1.1 であった。そして, 貯蔵期間中すべての試料間に有意差は認められなかった。ORDONEZ and LEDWARD²⁴⁾ は TBA number 値が約 5.0 に達すると明らかに酸敗臭を感じると報告した。さらに, 永松と日比¹⁰⁾ は 80% O₂ 気相下で牛脂の過酸化価を測定し, 牛脂の酸化は高濃度酸素条件下でも特に促進されなかったと報告している。本実験条件下においてもガス置換包装試料において貯蔵 6 日目で TBA number 値は 3.0 で酸敗臭は大きな問題とはならなかった。脂質酸化において真空とフラッシュガス置換包装による差異は認められなかった。

なお, 本実験と同一条件下で行われた“スライス牛肉の筋原線維の小片化, 筋肉蛋白質の抽出性および LDH 活性に及ぼすガス置換包装の影響”については第 2 報で報告する。

要 約

一般市場にすでに流通しているのと同じのガス置換包装条件下で, スライス牛肉の pH 値, 細菌数, MetMb 生成量および脂質酸化に及ぼす真空とフラッシュガス置換包装の影響につき検討することを目的とした。スライス牛肉を (A) ストレッチ包装 (対照), (B) 20% CO₂ + 80% O₂ 真空ガス置換包装, (C) 20% CO₂ + 80% O₂ フラッシュガス置換包装し, 5℃ に貯蔵した。0, 2, 4, 6, 8 日後, pH 値, 細菌数, MetMb 生成量および脂質酸化 (TBA number) につき分析した。その結果, 1) pH 値は対照では貯蔵 8 日目には上昇したが, (B) と (C) 試料は低い pH 値を保持した。2) 生菌数, 低温細菌数および大腸菌群ともに (B) と (C) のガス置換包装試料では対照に比べて低い値が得られた。3) MetMb 生成量は対照, (B) および (C) 試料においていずれも貯蔵 3, 5 と 6 日後で 20% に達した。貯蔵 6 日目, MetMb 生成量は対照と (C) 試料のみに有意差が認められ, 真空とフラッシュガス置換包装の差異が生じる可能性が示唆された。4) TBA number は貯蔵期間中, 高酸素条件下のガス置換包装試料において対照より高い平均値が得られたが, 貯蔵 6 日後においても 3 程度であった。二つの異なる方法でガス置換包装したスライス牛肉の pH 値, 細菌数, 脂質酸化に有意な差異は認められなかったが, MetMb 生成量の一部に違いが生じる可能性が示唆された。

文 献

- 1) 横山理雄：食品と包装, 横山理雄・石谷孝佑編 (医歯薬出版, 東京), p. 302 (1982).
- 2) BUYS, E.M., KRUGER, J. and NORTJE, G.L.: *Meat Sci.*, **36**, 293 (1949).
- 3) DAUN, H., SOLBERG, M., FRANKE, W. and GILBERT, S.: *J. Food Sci.*, **36**, 1011 (1971).
- 4) TAYLOR, A.A. and MACDOUGALL, D.B.: *J. Food Technol.*, **8**, 453 (1973).
- 5) BARTKOWSKI, L., DRYDEN, F.D. and MARCHELLO, J.A.: *J. Food Prot.*, **45**, 41 (1982).
- 6) HUFFMAN, D.L., DAVIS, K.A., MARPLE, D.N. and MCGUIRE, J.A.: *J. Food Sci.*, **40**, 1229 (1975).
- 7) GEE, D.L. and BROWN, W.D.: *Meat Sci.*, **5**, 215 (1980-81).
- 8) SPAHL, A., REINECCIUS, G. and TATINI, S.: *J. Food Prot.*, **44**, 670 (1981).
- 9) 富岡芳彦・安田松夫・土屋恵美子・横山理雄：日食工誌, **30**, 25 (1983).
- 10) 永松幹晴・日比 洋：食肉界, **20**, 75 (1983).
- 11) 海沼祐治：包装技術, **30**, 1123 (1992).

- 12) LAWRIE, R. : *Developments in Meat Science*-3, (Elsevier Applied Sci. Pub., London and New York), p. 104 (1985).
- 13) 日本薬学会編 : 衛生試験法・注解, (金原出版, 東京), p. 107 (1980).
- 14) TROUT, G.R. : *Meat Sci.*, **28**, 203 (1990).
- 15) TARLADGIS, B.G., WATTS, B.M. and YOUNATHAN, M.T. Jr. : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **37**, 44 (1960).
- 16) 萩原博和・安田松夫・里見弘治・横山理雄・矢野信礼 : 日本包装学会誌, **2**, 211 (1993).
- 17) LEDWARD, D.A. : *J. Food Sci.*, **35**, 33 (1970).
- 18) KILSBY, D.C. : *Meat Microbiology* (BROWN, M.H., ed. Applied Sci. Pub., England), p. 378 (1982).
- 19) O'KEEFFE, M. and HOOD, D.E. : *Meat Sci.*, **7**, 209 (1982).
- 20) 横山理雄 : 肉の科学, **28**, 175 (1987).
- 21) OKAYAMA, T. : *Meat Sci.*, **19**, 179 (1987).
- 22) BROOKS, J. : *Food Res.*, **3**, 75 (1938).
- 23) BOWEN, W.J. : *J. Biol. Chem.*, **179**, 235 (1949).
- 24) ORDONEZ, J.A. and LEDWARD, D.A. : *Meat Sci.*, **1**, 41 (1977).

(平成 6 年 8 月 3 日受理)