

ガス置換包装における二酸化炭素,酸素,及びその混合ガスが 豚挽き肉の微生物叢並びに品質に及ぼす影響

誌名	食品衛生学雑誌
ISSN	00156426
巻/号	362
掲載ページ	p. 252-262
発行年月	1995年4月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



ガス置換包装における二酸化炭素, 酸素, 及びその混合ガスが豚挽き肉の微生物叢並びに品質に及ぼす影響

(平成6年8月18日受理)

荻原博和* 蟹江 誠*
矢野信禮* 春田三佐夫*

Effects of Carbon Dioxide, Oxygen, and Their Gas Mixture on the Changes of Microflora and Quality of Ground Pork in Modified Atmosphere Packaging

Hirokazu OGIHARA, Makoto KANIE, Nobuhiro YANO
and Misao HARUTA

(Department of Food Technology, College of Agriculture and Veterinary Medicine,
Nihon University: 3-34-1, Shimouma, Setagaya-ku, Tokyo 154, Japan)

The effects of CO₂, O₂ and their mixture used for modified atmosphere packaging on the keeping quality and microflora of ground pork stored at 5°C for 15 days were compared with those of air packaging.

The increase of viable counts in ground pork packaged with mixed gases was suppressed in proportion to the increase of CO₂ ratio in the gas mixture. At the beginning of storage, the microflora in ground pork mainly comprised *Micrococcus*, yeast and *Acinetobacter*. On the 15th day, dominant flora were *Pseudomonas* for 100% O₂ and 10% CO₂:90% O₂ packages, *Brochothrix* for 20% CO₂:80% O₂, 30% CO₂:70% O₂ and 40% CO₂:60% O₂, and *Lactobacillus* for 50% CO₂:50% O₂, 60% CO₂:40% O₂, 70% CO₂:30% O₂, 80% CO₂:20% O₂, 90% CO₂:10% O₂, and 100% CO₂ packages. The VBN values of the air, 100% O₂ and 10% CO₂:90% O₂ packages on the 15th day of storage were 34.7, 31.2 and 27.4 mg/100 g, respectively, while the values of the other gas mixture packages were less than 16 mg/100 g. The pH values were less than 6.0 except for the air, 100% O₂ and 10% CO₂:90% O₂ packages by the 15th day. Redness (color value) of meat was better maintained by the gases with higher O₂ ratios.

It was evident from these results that CO₂:O₂ mixed gases with CO₂ concentration between 50% and 60% would be most effective to extend the shelf life of ground pork in modified atmosphere packaging.

(Received August 18, 1994)

Key words: 二酸化炭素 carbon dioxide; 酸素 oxygen; ガス置換包装 modified atmosphere packaging; 微生物叢 microflora; 品質 quality; 豚挽き肉 ground pork

緒 言

ガス置換包装は食品を取り巻く環境の雰囲気、不活性ガス(二酸化炭素, 窒素)や酸素などのガスで置換し、食品の変質を抑制して、食品本来のもつ品質を保持しようとするものである。しかしながら、食品によってガスの種類及び組成は異なり、最も適したガスを選択するこ

とが重要となる。例えば牛肉のガス置換包装にあっては、短期的な冷蔵保存の場合、酸素と二酸化炭素の組み合わせで行われ、ガス混合比率が75~80%:25~20%が良好とされている^{1)~4)}。

豚肉は牛肉に比べ、一般に肉色に影響を及ぼすミオグロビン含量が少なく⁵⁾、肉質を形成する繊維も柔らかいことなどから、腐敗に関与する細菌叢も牛肉のそれと異なる可能性がある。著者ら⁶⁾は、ガス置換包装(単体の酸

* 日本大学農獣医学部: 〒154 東京都世田谷区下馬 3-34-1

素、二酸化炭素、窒素)、真空包装、脱酸素剤封入包装、含気包装、ストレッチ包装した豚肉を低温で保存、その間の微生物叢の推移を検討した。その結果、真空包装と二酸化炭素包装では *Lactobacillus* が、酸素置換包装、含気包装及びストレッチ包装では *Pseudomonas* が、窒素包装では *Pseudomonas* と *Brochothrix* が優勢となり、脱酸素剤封入包装では *Lactobacillus* が増加した後に *Serratia* が大勢を占めた。特に微生物学的な保存性延長効果は、二酸化炭素置換包装、脱酸素剤封入包装及び真空包装で良好な結果を得たが、肉色の面では劣ることを報告した。更に前報⁷⁾では、ガス置換包装の二酸化炭素と酸素、及びその混合ガスが食品媒介病原細菌と腐敗細菌の発育に及ぼす影響について検討を行い、好気性細菌は二酸化炭素の影響を強く受け発育の認められないものもみられ、通性嫌気性菌でも二酸化炭素の比率が高まるにつれて発育が抑制されることを報告した。

そこで今回は、微生物の発育抑制に効果が見られる二酸化炭素と、肉色の保持に有効な酸素を組み合わせることにより、両混合ガスが冷蔵中の豚挽き肉の微生物叢への影響と、それに伴って起こる品質変化について検討するとともに、シェルフライフ延長のための適切なガス組成についても検討した。

実験材料及び方法

1. 供試試料とガス置換方法

神奈川県下の食肉卸売会社より豚ロース肉を購入後、直ちに研究室に搬入し、無菌的にできるだけ結合組織や脂肪部分を取り除いた後、挽き肉とした。この挽き肉を均一になるように十分に混合し、トレー(中央化学(株)製、PP 15-11, 150×114×26 mm)に約 80 g をのせ、KON/PE フィルム(ポリ塩化ビニリデンコートナイロン/ポリエチレン、220×320 mm, 酸素透過度; 5~15 ml/m²·atm·24 hr, 水蒸気透過度; 7 g/m²·atm·24 hr)袋に収めた。

次に、これらの試料をガス置換包装機(Multivac 社製、A300 型)を用いて、前報⁷⁾と同様の条件すなわち二酸化炭素と酸素、及びその混合ガス(100% CO₂, 90% CO₂:10% O₂, 80% CO₂:20% O₂, 70% CO₂:30% O₂, 60% CO₂:40% O₂, 50% CO₂:50% O₂, 40% CO₂:60% O₂, 30% CO₂:70% O₂, 20% CO₂:80% O₂, 10% CO₂:90% O₂, 100% O₂ の合計 11 種類)で置換し、ガス置換包装試料を調整した。一方、対照としてガスの代わりに空気を同量封入密封したものを調整した。

2. 包装内置換ガス組成の測定

ガス置換包装後のガス組成の確認は、ガスクロマトグラフィー(GLC)により、前報⁷⁾と同様の条件で行った。

3. 保存条件

包装試料は、5°の低温恒温器内((株)日立製作所製・インキュベーター)で保存し、保存前及び保存後 1, 3, 5, 7, 10, 15 日目に恒温器より取り出し、各試験を実施した。

4. 微生物学的試験

1) 試料の調製

よく混合した試料 10 g をストマフィルター(グンゼ産業(株)製)に採取し、0.1% ペプトン添加生理食塩水⁸⁾を 90 ml 加え、ストマッカー(オルガノ社製、Lab-Blender 400 型)で約 1 分間ストマッキングしたものを試料原液とした。更に、本液を 0.1% ペプトン添加生理食塩水を用いて必要に応じて 10 倍段階希釈液とし、各菌数の測定に供した。

2) 生菌数の測定⁸⁾

Standard Methods Agar (BBL 社製)を用いて、平板塗抹法により 30°, 72 時間培養後、発育した集落を計測し菌数を算出した。更に分散分析法並びに Duncan の多重範囲検定法⁹⁾により各ガス組成間における有意差検定を行った。

3) グラム陰性菌数の測定

Standard Methods Agar に crystal violet (Merck 社製)と TTC (和光純薬工業(株)製)を加えた CVT 寒天培地¹⁰⁾を用いて、平板塗抹法により 30°, 72 時間培養後、赤色集落のみを計測し、菌数を算出した。

4) 乳酸菌数の測定

Lactobacilli MRS Broth (Difco 社製)に Bacto-Agar (Difco 社製)を加え、酢酸で pH 5.4 に調整した酸性 MRS 寒天培地¹¹⁾を用いて、平板塗抹法により嫌気培養装置内で 30°, 72 時間培養後、発育したすべての集落についてカタラーゼ試験を行い、カタラーゼ陰性のものを乳酸菌とし、菌数を算出した。

5) 分離菌の同定

生菌数計測後の各平板から、無作為にそれぞれ 30 菌株を釣菌し、これらの分離菌株について集落性状、色素産生、グラム反応、形態、運動性、カタラーゼ試験、チトクローム・オキシダーゼ試験、芽胞の有無、OF 試験、炭水化物試験等の試験を行い、Vanderzant ら¹²⁾、Cowan ら¹³⁾、Dainly ら¹⁴⁾、金子¹⁵⁾、Brawn ら¹⁶⁾、Buchanan ら¹⁷⁾の方法に準じて科及び属レベルでの同定を行った。Enterobacteriaceae については、善養寺ら¹⁸⁾の方法並びにパイルチューブ(栄研化学(株)製)による同定を行った。

5. 理化学的試験

1) 揮発性塩基窒素(VBN)の測定

衛生試験法・注解¹⁹⁾に準じ、コンウェイの微量拡散法により測定した。

2) pH の測定

試料 10 g に精製水 90 ml を加えてよく混合し、ろ紙でろ過した。ろ液についてガラス電極 pH メーター((株)堀場製作所製、F-8 型)を用いて測定した。

3) 肉色の測定

肉色は、色彩色差計(ミノルタカメラ(株)製、CR-100 型)を用い、包装材料の上から測定し、明度(L 値)、色相

Table 1. Composition of Gases Used for Modified Atmosphere Packaging of Ground Pork

Combination of gases	Substantial gas ratio in the package	
	CO ₂ (vol. %)	O ₂ (vol. %)
100% CO ₂	100.0	tr*
90% CO ₂ /10% O ₂	89.8	10.2
80% CO ₂ /20% O ₂	80.4	19.6
70% CO ₂ /30% O ₂	70.15	29.85
60% CO ₂ /40% O ₂	60.0	40.0
50% CO ₂ /50% O ₂	50.2	49.8
40% CO ₂ /60% O ₂	39.65	60.35
30% CO ₂ /70% O ₂	28.2	71.8
20% CO ₂ /80% O ₂	21.4	78.6
10% CO ₂ /90% O ₂	7.9	92.1
100% O ₂	tr*	100.0

* Trace

(a 値), 彩度 (b 値) をもって示した。

実験結果**1. 包装内の置換ガス組成の確認**

包装内の二酸化炭素、酸素及び両混合ガス (9 種類) 組成の測定した結果を Table 1 に示した。各包装内のガス組成の変動は設定条件に対して ±2% 以内であった。

2. 生菌数に及ぼすガス組成の影響

Table 2 は, 5° に保存した豚挽き肉における生菌数の消長を示したものである。

保存開始時の豚挽き肉中の菌数は 1.2×10^4 CFU/g で, 全包装とも保存日数の経過につれて, 菌数増加の傾向が認められた。全般的に二酸化炭素の占める割合の高いほど, 菌数の増加が著しく抑制される傾向を示した。すなわち二酸化炭素濃度が 10% 以下の場合には, 菌数の増加が顕著で, 保存 7 日目には含気包装及び 100% O₂ とともに 10^6 CFU/g に, 10% CO₂:90% O₂ では 10^5 CFU/g に増加した。これに対して 20~60% CO₂:80~40% O₂ のガス組成では 10^4 CFU/g に, 更に 70~100% CO₂:30~0% O₂ ではほとんど菌数の増加はみられなかった。保存 15 日目になると含気, 100% O₂ 及び 10% CO₂:90% O₂ では, いずれの場合にも $10^8 \sim 10^9$ CFU/g に達した。また 20% CO₂:80% O₂ と 30% CO₂:70% O₂ では 10^7 CFU/g に, 40% CO₂:60% O₂ と 50% CO₂:50% O₂ では 10^6 CFU/g にそれぞれ増加した。しかし, 二酸化炭素の含有割合が 60% 以上の場合には, 菌数が 10^5 CFU/g と保存当初に比べて 1 オーダー程度の増加に留まり, 二酸化炭素による菌数の増加抑制効果が顕著であった。

Table 3 に, 各ガス組成の下で得られた生菌数の有意

差検定 (5% 水準) 結果を示した。

保存 1 日目ではガス組成間に菌数の差は認められなかった。保存 3 日目になると二酸化炭素濃度が 10% 以上の組成では, 100% O₂ 及び対照の含気包装に比べて有意に低い菌数を示した。保存 7 日目では二酸化炭素の割合が 30~100% 組成の場合, 他のガス組成に比べて有意に低い菌数を示した。更に保存 10 日目及び 15 日目では, 100% CO₂ における菌数が他のガス組成の場合に比べて有意に低く, 最も静菌効果の高いことが認められた。また二酸化炭素の割合が 60~90% の範囲内では有意の差は認められなかった。

3. グラム陰性菌数に及ぼすガス組成の影響

Table 4 に, 5° に保存した豚挽き肉におけるグラム陰性菌数の変化を示した。

グラム陰性菌数は保存当初 7.3×10^2 CFU/g を示したが, 保存 7 日目には含気包装及び 100% O₂ では 10^6 CFU/g, 10% CO₂:90% O₂ では 10^4 CFU/g, 二酸化炭素の割合が 20~40% の場合は 10^3 CFU/g に増加した。しかし, 50~100% CO₂ の場合菌数の増加は認められなかった。更に, 保存 15 日目になると含気包装, 100% O₂ 及び 10% CO₂:90% O₂ では, $10^8 \sim 10^9$ CFU/g に達したのに対して, 他のガス組成では二酸化炭素の割合の高いほど菌数の増加が緩慢で, 特に CO₂ が 70% 以上の場合, 菌数の増加は認められなかった。

4. 乳酸菌数に及ぼすガス組成の影響

Table 5 に, 5° に保存した豚挽き肉における乳酸菌数の変化を示した。

保存当初の豚挽き肉から検出された乳酸菌は, 10 CFU/g 以下と少なく, ガス置換包装ではいずれも保存 5 日目まで菌数の増加はほとんどみられなかった。しかし保存 7 日目以降に至り菌数が徐々に増加し, 保存 15 日目には含気包装を含めたすべてのガス組成で $10^4 \sim 10^5$ CFU/g に増加した。乳酸菌数の推移の状況は, 生菌数及びグラム陰性菌数のそれらとは異なり, 全保存期間を通してガス組成間に顕著な差は認められなかった。

5. 微生物叢に及ぼすガス組成の影響

Fig. 1 に, 5° に保存した豚挽き肉における微生物叢の変化を示した。

保存当初の豚挽き肉にみられた微生物叢は, *Micrococcus*, *Yeast*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Flavobacterium* などが主要なものであった。保存 5 日目には含気包装及び 100% O₂ では, *Pseudomonas* が全微生物叢の約 60% 以上を占め, 更に保存 7 日目には約 90% に達し, その後本菌が優位のまま推移した 10% CO₂:90% O₂ では, 保存 5 日目頃から *Pseudomonas*, *Brochothrix* の占める割合が高くなり, その後これら 2 菌属が優位のまま推移した。一方, 二酸化炭素が 20~40% のガス組成にあっては, 全保存期間を通して *Pseudomonas* の増加はみられず, *Brochothrix* が優

Table 2. Effects of Gas Composition on Viable Counts of Ground Pork during Storage at 5°C (CFU/g)

Storage period (days)	Gas composition										
	100%CO ₂	90%CO ₂ /10%O ₂	80%CO ₂ /20%O ₂	70%CO ₂ /30%O ₂	60%CO ₂ /40%O ₂	50%CO ₂ /50%O ₂	40%CO ₂ /60%O ₂	30%CO ₂ /70%O ₂	20%CO ₂ /80%O ₂	10%CO ₂ /90%O ₂	Air
0	1.2×10 ⁴	1.2×10 ⁴	1.2×10 ⁴	1.2×10 ⁴	1.2×10 ⁴	1.2×10 ⁴	1.2×10 ⁴	1.2×10 ⁴	1.2×10 ⁴	1.2×10 ⁴	1.2×10 ⁴
1	7.5×10 ³	8.7×10 ³	6.3×10 ³	8.7×10 ³	7.1×10 ³	8.5×10 ³	8.6×10 ³	1.0×10 ⁴	7.1×10 ³	9.9×10 ³	9.1×10 ³
3	1.1×10 ⁴	9.3×10 ³	8.0×10 ³	1.0×10 ⁴	7.6×10 ³	8.5×10 ³	8.3×10 ³	9.2×10 ³	9.3×10 ³	1.1×10 ⁴	1.9×10 ⁴
5	8.8×10 ³	6.8×10 ³	9.5×10 ³	1.1×10 ⁴	8.2×10 ³	9.9×10 ³	9.0×10 ³	1.1×10 ⁴	1.4×10 ⁴	1.8×10 ⁴	1.9×10 ⁵
7	7.8×10 ³	6.8×10 ³	7.9×10 ³	7.2×10 ³	1.1×10 ⁴	1.1×10 ⁴	1.1×10 ⁴	1.2×10 ⁴	3.4×10 ⁴	3.7×10 ⁵	4.5×10 ⁶
10	1.0×10 ⁴	1.9×10 ⁴	1.7×10 ⁴	2.6×10 ⁴	2.3×10 ⁴	5.9×10 ⁴	8.0×10 ⁴	4.8×10 ⁵	1.2×10 ⁶	1.0×10 ⁷	2.3×10 ⁸
15	2.3×10 ⁵	5.2×10 ⁵	3.7×10 ⁵	8.2×10 ⁴	6.7×10 ⁵	2.3×10 ⁶	2.9×10 ⁶	2.2×10 ⁷	5.9×10 ⁷	5.4×10 ⁸	1.9×10 ⁹

Table 3. Statistical Analysis of Difference of Viable Counts among the Gas Composition

Storage period (day)	Gas composition										
	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
0	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
1	30	10	0	90	40	70	50	Air	100	20	60
3	Air	0	10	100	70	20	90	30	50	80	40
5	Air	0	10	20	30	70	50	80	40	100	60
7	Air	0	10	20	30	60	40	50	80	100	70
10	0	Air	10	20	30	40	50	70	60	90	80
15	0	Air	10	20	30	40	50	70	60	90	80

10 = 10%CO₂/90%O₂, 20 = 20%CO₂/80%O₂, 30 = 30%CO₂/70%O₂, 40 = 40%CO₂/60%O₂, 50 = 50%CO₂/50%O₂, 60 = 60%CO₂/40%O₂, 70 = 70%CO₂/30%O₂, 80 = 80%CO₂/20%O₂, 90 = 90%CO₂/10%O₂, 100 = 100%CO₂, 0 = 100%O₂

The order of viable cell number counted corresponds to the order of the column; the highest count is in the gas composition of the first column and the lowest one in the last.

Gas compositions connected by same underlines are not significantly different ($p > 0.05$).

Table 4. Effects of Gas Composition on Gram Negative Bacterial Counts of Ground Pork during Storage at 5°C (CFU/g)

Storage period (days)	Gas composition										
	100%CO ₂	90%CO ₂ /10%O ₂	80%CO ₂ /20%O ₂	70%CO ₂ /30%O ₂	60%CO ₂ /40%O ₂	50%CO ₂ /50%O ₂	40%CO ₂ /60%O ₂	30%CO ₂ /70%O ₂	20%CO ₂ /80%O ₂	10%CO ₂ /90%O ₂	Air
0	7.3×10 ²	7.3×10 ²	7.3×10 ²	7.3×10 ²	7.3×10 ²	7.3×10 ²	7.3×10 ²	7.3×10 ²	7.3×10 ²	7.3×10 ²	7.3×10 ²
1	7.5×10 ²	6.5×10 ²	4.0×10 ²	7.0×10 ²	5.5×10 ²	5.5×10 ²	5.5×10 ²	6.5×10 ³	1.0×10 ²	4.5×10 ²	5.5×10 ²
3	6.1×10 ²	7.5×10 ²	6.6×10 ²	6.2×10 ²	5.2×10 ²	5.9×10 ²	5.9×10 ²	7.1×10 ²	4.4×10 ²	7.3×10 ²	4.7×10 ³
5	7.3×10 ²	5.5×10 ²	9.0×10 ²	6.0×10 ²	6.2×10 ²	7.6×10 ²	7.6×10 ²	9.6×10 ³	1.0×10 ³	1.8×10 ³	5.8×10 ⁵
7	2.7×10 ²	4.7×10 ²	4.6×10 ²	7.7×10 ²	5.7×10 ²	9.7×10 ²	9.7×10 ³	1.1×10 ³	1.3×10 ³	4.5×10 ⁴	9.3×10 ⁶
10	2.5×10 ²	2.1×10 ²	1.4×10 ²	5.4×10 ²	1.7×10 ²	6.7×10 ²	6.7×10 ³	1.2×10 ³	2.7×10 ³	9.4×10 ⁵	9.8×10 ⁷
15	1.7×10 ²	2.4×10 ²	3.0×10 ²	6.0×10 ²	1.8×10 ³	7.6×10 ³	7.6×10 ⁴	3.1×10 ⁵	8.0×10 ⁶	3.5×10 ⁸	1.1×10 ⁹

Table 5. Effects of Gas Composition on Lactic Acid Bacterial Counts of Ground Pork during Storage at 5°C (CFU/g)

Storage period (days)	Gas composition										
	100%CO ₂	90%CO ₂ /10%O ₂	80%CO ₂ /20%O ₂	70%CO ₂ /30%O ₂	60%CO ₂ /40%O ₂	50%CO ₂ /50%O ₂	40%CO ₂ /60%O ₂	30%CO ₂ /70%O ₂	20%CO ₂ /80%O ₂	10%CO ₂ /90%O ₂	Air
0	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10
1	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10
3	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10
5	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10	<1.0×10
7	5.0×10	2.0×10 ²	2.0×10 ²	2.5×10 ²	1.0×10 ²	2.0×10 ²	2.0×10 ²	5.0×10 ²	5.0×10	5.9×10 ²	1.3×10 ³
10	1.4×10 ³	1.2×10 ⁴	7.3×10 ³	3.1×10 ³	8.7×10 ³	1.6×10 ³	1.3×10 ³	7.2×10 ³	1.4×10 ⁴	6.5×10 ³	5.9×10 ⁴
15	5.2×10 ⁴	1.5×10 ⁵	1.4×10 ⁵	2.2×10 ⁵	9.7×10 ⁴	6.2×10 ⁴	2.3×10 ⁵	2.7×10 ⁵	5.8×10 ⁵	3.2×10 ⁵	5.3×10 ⁵

Table 6. Changes of Volatile Basic Nitrogen Value of Ground Pork during Storage at 5°C (mg/100 g)

Storage period (days)	Gas composition										
	100%CO ₂	90%CO ₂ /10%O ₂	80%CO ₂ /20%O ₂	70%CO ₂ /30%O ₂	60%CO ₂ /40%O ₂	50%CO ₂ /50%O ₂	40%CO ₂ /60%O ₂	30%CO ₂ /70%O ₂	20%CO ₂ /80%O ₂	10%CO ₂ /90%O ₂	Air
0	13.0	13.0	13.0	13.0	13.0	13.0	13.0	13.0	13.0	13.0	13.0
1	12.4	11.9	12.0	12.2	12.3	12.4	12.4	12.3	12.5	12.4	12.3
3	12.7	12.5	12.5	12.3	12.9	12.5	12.7	12.9	12.6	12.6	13.2
5	13.0	13.0	12.7	13.2	12.9	13.0	13.2	13.0	13.0	13.2	13.6
7	13.3	13.7	13.4	13.5	13.3	13.6	13.5	13.4	13.5	13.9	14.5
10	13.6	13.2	13.1	13.1	13.5	13.5	13.8	13.1	13.5	13.5	21.9
15	13.5	13.8	14.2	14.0	14.4	14.0	14.0	14.5	15.7	27.4	34.7

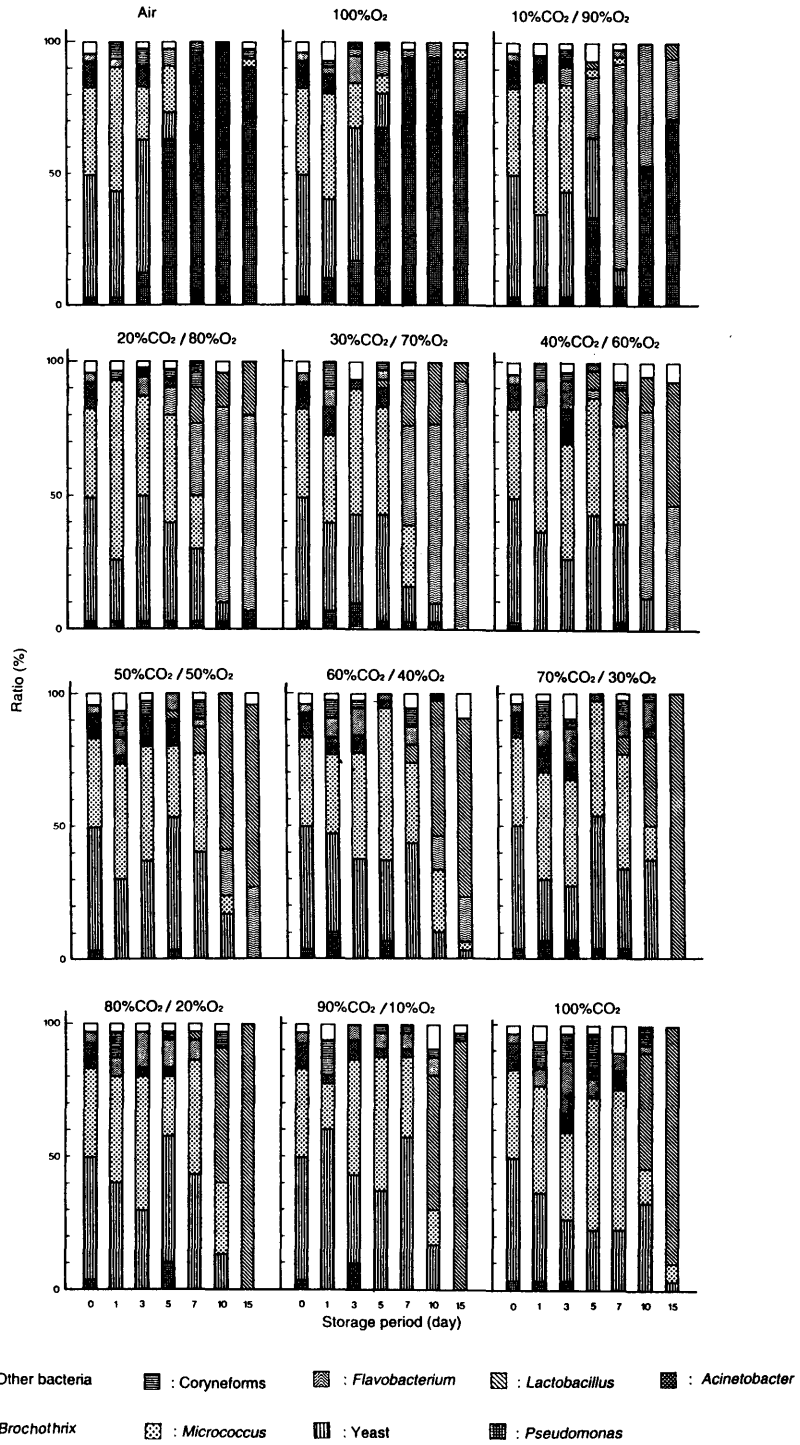
Table 7. Changes of pH Value of Ground Pork during Storage at 5°C (mg/100 g)

Storage period (days)	Gas composition										
	100%CO ₂	90%CO ₂ /10%O ₂	80%CO ₂ /20%O ₂	70%CO ₂ /30%O ₂	60%CO ₂ /40%O ₂	50%CO ₂ /50%O ₂	40%CO ₂ /60%O ₂	30%CO ₂ /70%O ₂	20%CO ₂ /80%O ₂	10%CO ₂ /90%O ₂	Air
0	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1
1	5.9	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8
3	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8
5	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8
7	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8
10	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.9
15	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.7	6.1	6.2

Table 8. Changes of the Hunter L, a, b, Values of Ground Pork during Storage at 5°C

Storage period (days)	Gas composition																													
	100%CO ₂	90%CO ₂ /10%O ₂	80%CO ₂ /20%O ₂	70%CO ₂ /30%O ₂	60%CO ₂ /40%O ₂	50%CO ₂ /50%O ₂	40%CO ₂ /60%O ₂	30%CO ₂ /70%O ₂	20%CO ₂ /80%O ₂	10%CO ₂ /90%O ₂	100%O ₂	Air																		
L.	0	48.7±0.7	48.7±0.7	48.7±0.7	48.7±0.7	48.7±0.7	48.7±0.7	48.7±0.7	48.7±0.7	48.7±0.7	48.7±0.7	48.7±0.7	53.3±1.2	53.4±0.9	53.3±0.9	53.8±1.2	53.5±1.4	53.5±0.8	53.7±1.0	54.0±1.2	53.0±0.8	53.0±1.0	53.7±0.5	52.9±0.6	52.6±1.1	53.5±1.5				
	1	52.3±1.2	53.4±0.9	53.3±0.9	53.8±0.7	53.5±1.2	53.3±1.0	53.7±0.7	53.0±1.0	52.9±0.7	53.4±0.8	53.3±0.7	53.0±1.0	52.9±0.7	53.4±0.8	53.3±0.7	53.0±1.0	52.9±0.7	53.5±0.9	54.0±0.6	53.9±1.0	53.9±1.0	53.9±1.0	53.9±1.0	53.9±1.0	53.9±1.0	53.9±1.0	53.9±1.0		
	3	52.1±1.1	54.1±1.2	53.9±1.2	54.3±0.8	53.5±1.4	53.9±0.8	53.8±0.7	53.5±0.9	54.0±0.6	52.9±0.6	52.6±1.1	53.5±1.5	53.3±0.7	53.0±1.0	52.9±0.7	53.4±0.8	53.3±0.7	53.0±1.0	52.9±0.7	53.4±0.8	53.3±0.7	53.0±1.0	52.9±0.7	53.4±0.8	53.3±0.7	53.0±1.0	53.9±1.0		
	5	52.1±1.0	54.6±0.7	54.8±1.2	54.3±0.8	53.7±1.0	54.0±1.2	53.0±0.8	53.0±1.0	53.7±0.5	52.9±0.6	52.6±1.1	53.5±1.5	53.3±0.7	53.0±1.0	52.9±0.7	53.4±0.8	53.3±0.7	53.0±1.0	52.9±0.7	53.4±0.8	53.3±0.7	53.0±1.0	52.9±0.7	53.4±0.8	53.3±0.7	53.0±1.0	53.9±1.0		
	7	52.8±0.7	54.7±1.0	54.1±1.1	54.6±1.0	54.0±0.9	54.7±1.0	54.5±0.5	53.7±0.9	54.7±1.0	53.8±0.8	53.0±1.0	53.9±1.2	53.7±0.5	52.9±0.6	52.6±1.1	53.5±1.5	53.3±0.7	53.0±1.0	52.9±0.7	53.4±0.8	53.3±0.7	53.0±1.0	52.9±0.7	53.4±0.8	53.3±0.7	53.0±1.0	53.9±1.0		
	10	53.8±1.5	55.4±1.2	55.2±0.9	56.7±1.0	54.3±1.0	54.8±1.3	55.2±1.5	54.0±0.8	54.9±0.7	54.1±1.5	53.9±1.3	54.9±1.1	54.9±0.7	54.1±1.5	54.9±1.1	53.9±1.3	54.9±0.7	54.1±1.5	54.9±1.1	53.9±1.3	54.9±0.7	54.1±1.5	54.9±1.1	53.9±1.3	54.9±0.7	54.1±1.5	54.9±1.1		
	15	53.0±0.5	56.2±0.7	56.1±1.0	56.9±0.9	56.7±1.5	56.2±1.2	55.5±1.0	55.3±0.6	55.6±1.1	54.9±0.8	53.9±1.1	54.9±0.8	53.9±1.1	54.9±0.8	53.9±1.1	54.9±0.8	53.9±1.1	54.9±0.8	53.9±1.1	54.9±0.8	53.9±1.1	54.9±0.8	53.9±1.1	54.9±0.8	53.9±1.1	54.9±0.8	53.9±1.1	54.9±0.8	
a.	0	7.9±0.9	7.9±0.9	7.9±0.9	7.9±0.9	7.9±0.9	7.9±0.9	7.9±0.9	7.9±0.9	7.9±0.9	7.9±0.9	7.9±0.9	7.9±0.9	7.9±0.9	7.9±0.9	7.9±0.9	7.9±0.9	7.9±0.9	7.9±0.9	7.9±0.9	7.9±0.9	7.9±0.9	7.9±0.9	7.9±0.9	7.9±0.9	7.9±0.9	7.9±0.9	7.9±0.9		
	1	8.2±0.7	9.5±0.6	9.3±0.7	10.1±0.8	9.1±0.5	9.4±0.9	9.1±0.6	9.0±0.5	9.0±0.6	9.0±0.6	9.0±0.6	9.0±0.6	9.0±0.6	9.0±0.6	9.0±0.6	9.0±0.6	9.0±0.6	9.0±0.6	9.0±0.6	9.0±0.6	9.0±0.6	9.0±0.6	9.0±0.6	9.0±0.6	9.0±0.6	9.0±0.6	9.0±0.6	9.0±0.6	
	3	8.1±0.6	6.8±0.4	8.0±0.4	7.8±0.5	8.3±0.5	8.7±0.5	8.1±0.7	8.8±0.7	8.3±0.6	8.3±0.8	9.0±0.4	7.2±0.4	8.3±0.6	8.3±0.8	9.0±0.4	7.2±0.4	8.3±0.6	8.3±0.8	9.0±0.4	7.2±0.4	8.3±0.6	8.3±0.8	9.0±0.4	7.2±0.4	8.3±0.6	8.3±0.8	9.0±0.4	7.2±0.4	
	5	8.2±0.6	6.9±0.5	7.5±0.5	8.4±0.5	8.1±0.3	8.2±0.5	8.5±0.5	8.4±0.5	8.2±0.4	8.3±0.4	8.6±0.5	6.0±0.6	8.2±0.5	8.2±0.4	8.6±0.5	6.0±0.6	8.2±0.5	8.2±0.4	8.6±0.5	6.0±0.6	8.2±0.5	8.2±0.4	8.6±0.5	6.0±0.6	8.2±0.5	8.2±0.4	8.6±0.5	6.0±0.6	
	7	7.6±0.3	5.4±0.6	5.6±0.6	7.3±0.4	7.6±0.6	7.1±0.7	7.1±0.5	7.9±0.6	7.6±0.5	7.9±0.0	8.0±0.7	5.5±0.6	7.1±0.7	7.1±0.5	7.9±0.6	7.6±0.5	7.9±0.0	8.0±0.7	5.5±0.6	7.1±0.7	7.1±0.5	7.9±0.6	7.6±0.5	7.9±0.0	8.0±0.7	5.5±0.6	7.1±0.7	7.1±0.5	
	10	7.5±0.4	4.9±0.5	5.5±0.5	5.4±0.6	6.7±0.5	6.5±0.9	7.2±0.2	7.7±0.8	7.4±0.8	7.5±0.8	4.3±0.6	5.5±0.6	6.5±0.9	7.2±0.2	7.7±0.8	7.4±0.8	7.5±0.8	4.3±0.6	5.5±0.6	6.5±0.9	7.2±0.2	7.7±0.8	7.4±0.8	7.5±0.8	4.3±0.6	5.5±0.6	6.5±0.9	7.2±0.2	
	15	9.3±0.7	5.3±0.7	6.6±0.7	6.4±0.7	7.1±0.4	7.3±0.4	8.0±0.4	7.8±0.5	7.7±0.4	6.7±0.6	7.4±0.4	9.2±0.6	7.3±0.4	8.0±0.4	7.8±0.5	7.7±0.4	6.7±0.6	7.4±0.4	9.2±0.6	7.3±0.4	8.0±0.4	7.8±0.5	7.7±0.4	6.7±0.6	7.4±0.4	9.2±0.6	7.3±0.4	8.0±0.4	
b.	0	4.5±0.6	4.5±0.6	4.5±0.6	4.5±0.6	4.5±0.6	4.5±0.6	4.5±0.6	4.5±0.6	4.5±0.6	4.5±0.6	4.5±0.6	4.5±0.6	4.5±0.6	4.5±0.6	4.5±0.6	4.5±0.6	4.5±0.6	4.5±0.6	4.5±0.6	4.5±0.6	4.5±0.6	4.5±0.6	4.5±0.6	4.5±0.6	4.5±0.6	4.5±0.6	4.5±0.6	4.5±0.6	
	1	2.4±0.5	7.3±0.5	7.4±0.5	8.0±0.6	7.5±0.5	7.8±0.4	7.9±0.5	7.7±0.3	7.8±0.5	8.1±0.6	7.2±0.5	4.5±0.6	7.8±0.4	7.9±0.5	7.7±0.3	7.8±0.5	8.1±0.6	7.2±0.5	4.5±0.6	7.8±0.4	7.9±0.5	7.7±0.3	7.8±0.5	8.1±0.6	7.2±0.5	4.5±0.6	7.8±0.4	7.9±0.5	7.7±0.3
	3	1.8±0.5	7.6±0.3	7.6±0.3	7.4±0.4	7.2±0.3	7.6±0.3	7.4±0.4	7.5±0.5	7.2±0.4	7.0±0.4	7.5±0.4	4.5±0.6	7.6±0.3	7.4±0.4	7.5±0.5	7.2±0.4	7.0±0.4	7.5±0.4	4.5±0.6	7.6±0.3	7.4±0.4	7.5±0.5	7.2±0.4	7.0±0.4	7.5±0.4	4.5±0.6	7.6±0.3	7.4±0.4	7.5±0.5
	5	1.5±0.2	7.7±0.3	8.0±0.5	8.1±0.5	7.4±0.3	7.3±0.3	7.6±0.4	7.4±0.3	7.2±0.3	7.1±0.4	7.5±0.7	4.5±0.6	7.3±0.3	7.6±0.4	7.4±0.3	7.2±0.3	7.1±0.4	7.5±0.7	4.5±0.6	7.3±0.3	7.6±0.4	7.4±0.3	7.2±0.3	7.1±0.4	7.5±0.7	4.5±0.6	7.3±0.3	7.6±0.4	7.4±0.3
	7	2.4±0.3	8.1±0.6	7.7±0.3	8.0±0.5	8.1±0.5	7.9±0.3	7.8±0.4	8.0±0.6	8.0±0.5	8.1±0.6	8.2±0.7	4.5±0.6	7.9±0.3	7.8±0.4	8.0±0.6	8.0±0.5	8.1±0.6	8.2±0.7	4.5±0.6	7.9±0.3	7.8±0.4	8.0±0.6	8.0±0.5	8.1±0.6	8.2±0.7	4.5±0.6	7.9±0.3	7.8±0.4	8.0±0.5
	10	2.6±0.4	8.4±0.5	7.7±0.3	7.8±0.8	7.7±0.3	7.4±0.8	7.9±0.4	8.0±0.4	8.0±0.5	7.7±0.5	7.7±0.5	4.5±0.6	7.4±0.8	7.9±0.4	8.0±0.4	8.0±0.5	7.7±0.5	7.7±0.5	4.5±0.6	7.4±0.8	7.9±0.4	8.0±0.4	8.0±0.5	7.7±0.5	7.7±0.5	4.5±0.6	7.4±0.8	7.9±0.4	8.0±0.5
	15	1.2±0.7	7.3±0.4	7.6±0.6	7.5±0.3	7.2±0.5	6.9±0.4	6.9±0.4	7.1±0.3	7.0±0.5	6.6±0.5	3.2±0.5	4.5±0.6	7.3±0.4	7.6±0.6	7.5±0.3	7.2±0.5	6.9±0.4	6.9±0.4	7.1±0.3	7.0±0.5	6.6±0.5	3.2±0.5	4.5±0.6	7.3±0.4	7.6±0.6	7.5±0.3	7.2±0.5	6.9±0.4	6.9±0.4

Values represent the mean ± S.D. (n = 10) determined with Hunter system



Gas composition: cf. Table 1

Fig. 1. Changes of microflora of ground pork packed in modified atmosphere gas

位のまま推移した。更に 50% CO₂:50% O₂ と 60% CO₂:40% O₂ では、保存 5 日目まで微生物叢に大きな変化はみられなかったものの、その後は *Lactobacillus* が徐々に増加し、保存 15 日目には両ガス組成とも全体の 66.7% を占めたが、*Brochothrix* も保存 10 日目から検出され、16.7~26.7% の占有率を示した。

また、二酸化炭素が 70% 以上のガス組成では、保存 5 日目まで微生物叢に大きな変化はみられず、保存 7 日目に至り *Micrococcus*, yeast の占める割合が減少したのに対して *Lactobacillus* の増加が認められた。更に保存 15 日目には *Lactobacillus* が全体の 90% 以上となり、圧倒的優位を示した。

6. VBN 値に及ぼすガス組成の影響

Table 6 は、5° に保存した豚挽き肉における VBN 値の変化を示した。

VBN 値は保存当初 13.0 mg/100 g の数値を示した。保存 7 日目まで変化が認められず、保存 10 日目になると含気包装と 100% O₂ において数値の上昇が観察され、保存 15 日目には 30 mg/100 g を越えた。10% CO₂:90% O₂ の場合では、含気包装と 100% O₂ よりやや遅れて上昇し、保存 15 日目に 27 mg/100 g に達した。他方、二酸化炭素の割合が 20% 以上のガス組成では、全保存期間を通して変化は認められず、二酸化炭素が豚挽き肉の VBN 値の上昇を抑制する事実を認めた。

7. pH に及ぼすガス組成の影響

Table 7 に、5° に保存した豚挽き肉における pH の変化を示した。

pH は、保存 10 日目まで含気包装を含めすべてのガス組成で変化はみられなかった。その後含気包装、100% O₂ 及び 10% CO₂:90% O₂ でそれぞれ緩やかな上昇がみられ、保存 15 日目にはそれぞれ 6.2, 6.5, 6.1 の値を示した。

一方、二酸化炭素濃度が 20% 以上のガス組成では、保存 15 日目になっても変化は認められなかった。

8. 肉色に及ぼすガス組成の影響

Table 8 に、5° に保存した豚挽き肉における肉色 (L, a, b 値) の変化を示した。

肉眼的に豚肉の肉色は牛肉に比べ、赤みが弱く、淡紅色を呈した。実際に豚挽き肉の肉色を計測したところ、保存当初は、L 値が 48.7±0.7, a 値が 7.9±0.9, 彩度が 4.5±0.6 を示した。

L 値は、含気包装を含め全ガス組成とも保存日数の経過に伴って上昇する傾向を示したが、全保存期間を通してガス組成間に顕著な差は認められなかった。

a 値については、保存当初 7.9 の値を示した。含気包装では保存 1 日目で保存当初の値より低い値を示し、更に保存 5 日目には 6.0 に低下し、肉全体が褐色を呈した。これに対して酸素を置換した組成では、いずれも良好な結果を示した。すなわち 90% CO₂:10% O₂ では保

存 1 日目まで、80% CO₂:20% O₂ では保存 3 日目まで、また 70~30% CO₂:30~70% O₂ では保存 5 日目まで、更に 100% O₂ では保存 7 日目まで当初の値を保持した。

b 値については、100% CO₂ 以外のガス組成では明度 (a 値) と同様、保存日数の経過とともに値が上昇する傾向を示した。特に 100% CO₂ の場合には、保存後急速に値が低下し、他のガス置換包装とは異なった色調を呈した。

考 察

食肉・食肉製品に使用する包装材や包装機械の進歩により、包装技術もガス置換包装、脱酸素剤封入包装など種々の試みが行われるようになった。なかでもガス置換包装は、食品添加物を使用せずに当初の良好状態を保つことができることから、食肉の保存性延長の面で期待される技術のひとつである。特にガス置換包装は対象となる肉種に適したガス組成を検討し、最適な条件下で利用することが重要と考えられる。

今回、二酸化炭素と酸素及びこれらの混合ガスで豚挽き肉を保存し、保存性の効果を菌数と菌叢の推移並びに肉色の変化などから検討した。その結果、包装内の二酸化炭素の占める割合が高いガス組成ほど、生菌数増加に対する抑制効果が認められた。保存日数の経過とともに各ガス組成の間に差が認められたが、二酸化炭素を 60%~90% 含む組成では保存 15 日目でも菌数に有意の差はみられなかった。グラム陰性菌数については生菌数と同様、二酸化炭素の占める割合の増加につれて菌数が抑制される傾向が認められた。しかし、乳酸菌数については各ガス組成間に差がみられず、従来の報告²⁰⁾にみられると同様に乳酸菌はガスの影響を受けにくいものと思われた。

国内で生産された豚肉の微生物に関する検討は、小久保ら²¹⁾によってすでになされており、検出される菌はグラム陰性の *Flavobacterium*, *Achromobacter*, *Pseudomonas* が多いことが報告されている。今回の結果から検出された微生物は、yeast, *Micrococcus*, *Acinetobacter* が多く、小久保らの報告とやや異なる様相を示したが、これは恐らく屠殺後の時間経過や屠殺場での汚染菌叢の違いなどによるものと考えられる。

一方、我が国において豚肉をガス置換包装し、低温で保存した際の微生物叢に関する検討⁶⁾は少なく、特に混合ガス下での報告はみられない。本実験の結果からガス組成間の微生物叢の推移をみると、含気、100% O₂ 及び 10% CO₂:90% O₂ ではいずれも *Pseudomonas* が主要菌属であった。従来、好気冷蔵下で食肉を保存すると *Pseudomonas* に偏る^{6), 21)} ことが知られているが、著者らの結果も包装内のガス組成がこれらの菌の発育にとって良好な条件、すなわち好気条件に近いことからこのような菌叢に偏ったものと思われる。しかし、包装内の二

酸化炭素の割合が20%以上になると、*Pseudomonas*の占める割合が減少する傾向が確認された。これらの事実はBakerら²²⁾によっても報告されているが、著者ら⁵⁾も*Pseudomonas*の菌種によって感受性に差は認められるものの、20%以上の二酸化炭素は*Pseudomonas*の発育を抑制することを認めている。更に二酸化炭素が20~40%のガス組成下では、*Pseudomonas*に代わり*Brochothrix*が菌叢中で優位を占め、それに伴って異臭も感じられた。*Brochothrix*は炭水化物の分解に基づくアセトインや酢酸の産生あるいはバリンやロイシンなどを分解してイソ酪酸あるいはイソ吉草酸を産生し、異臭を発生させ、肉質劣化に関与する²³⁾と考えられている。この*Brochothrix*は食肉の保存の際に、品質を管理維持していくうえで重要な菌種であることが知られており、*Pseudomonas*と同様に*Brochothrix*の発育増殖を制御できれば豚肉の保存性延長により効果的であると考えられる。二酸化炭素濃度が50%以上のガス組成では、*Brochothrix*の発育は強く抑制され、代わって*Lactobacillus*が菌叢中優勢となった。これらの*Lactobacillus*は食品の酸敗の原因となる一方、腐敗細菌や病原菌の増殖を抑制する働きをもつ^{24)~26)}といわれており、食肉の微生物叢が*Lactobacillus*に遷移することは結果的に保存性延長に効果的であると考えられる。これらの結果はChristopherら²⁷⁾によっても報告されており、当初*Pseudomonas*で汚染された豚肉を50% CO₂:50% O₂と20% CO₂:80% O₂のガス気相下で保存した場合に、いずれも1週間後には*Leuconostoc*や*Lactobacillus*などが優勢になることを認めている。

一方、販売にあたり、食肉はその肉色が商品価値を大きく左右することが知られている。生鮮肉に特有の鮮紅色はオキシミオグロビンの含有率によるが、この含有率が高いものほど赤みが良いとされる。豚肉は牛肉に比べてミオグロビン含量が少ないために牛肉ほどの赤みは得られない。このミオグロビンに影響を与える酸素は、牛肉の場合80%程度が良好な結果を与えている¹⁾。豚肉の色については、酸素の割合が30%以上のガス組成の場合、肉の赤みを表わすa値が保存5日目まで維持され良好な肉色が保持された。特に酸素の割合がどの程度であればよいかは明確に判定できなかったが、酸素が30%以上あれば比較的良好な色調を示すことが確認され、酸素濃度がより高いほど長く赤みを維持した。Daunら²⁸⁾によると高濃度の酸素はオキシミオグロビンを形成させ、肉色を良好に保持できると述べている。これに対して100%二酸化炭素は、赤みに関与するa値に影響を及ぼさないものの、b値の急速な低下が認められ、肉眼的にみても肉色に悪い影響がみられた。このことは富岡ら²⁹⁾によっても報告され、高濃度の二酸化炭素は肉色に悪影響を及ぼし商品価値を低下させると指摘している。

菌数や菌叢の推移、肉色などの面から総合的にガス組

成を検討してみると、30~70% CO₂:70~30% O₂のやや広い範囲のガス組成が保存性延長に有効と思われた。特に店頭販売での利用には、牛肉で用いられるガス組成20~30% CO₂:80~70% O₂程度でも良好な結果が得られているが、肉質が牛肉に比較して柔らかく腐敗しやすい豚肉では、保存性の面から余裕を持たせ、腐敗に関与する*Pseudomonas*や*Brochothrix*の発育を抑制でき、しかも肉色の保持に良好な50% CO₂:50% O₂の組成を使用するのが良いものと思われた。

要約

豚挽き肉を酸素、二酸化炭素、及びその混合ガスを用いてガス置換包装を行い、5°で15日間保存し、その間における混合ガスが微生物叢とその品質に及ぼす影響について検討した。

1) 包装保存中の生菌数については、二酸化炭素の割合が高いガス組成の場合ほどその発育増殖が抑制され、100% CO₂で最も抑制効果が大きであった。

2) 保存当初の菌叢は*Micrococcus*, yeast, *Acinetobacter*が主要なものであったが、保存15日目に至り含気例、100% O₂, 10% CO₂:90% O₂ではいずれも*Pseudomonas*が、20%~40% CO₂:80%~60% O₂では*Brochothrix*が、50~100% CO₂:50~0% O₂では*Lactobacillus*が最優位となった。

3) pHとVBN値は、保存15日目に含気、100% O₂, 10% CO₂:90% O₂では上昇をみたが、他のガス組成では顕著な変化はみられなかった。

4) 肉色の変化は、酸素濃度が高いほど赤色の保持に有効であった。

以上のことから、二酸化炭素と酸素の混合ガスを使用した豚挽き肉の短期的な保存には、二酸化炭素と酸素の混合比(30~70% CO₂:70~30% O₂)の範囲が良好と思われた。

本論文の要旨は日本食品衛生学会第64回学術講演会(1992年10月、奈良市)において発表した。

文 献

- 1) Taylor, A. A., Macdougall, D. B.: *J. Food Technol.* 8, 453~461 (1973).
- 2) Nortje, G. L., Shaw, B. G.: *Meat Sci.* 25, 43~58 (1989).
- 3) 荻原博和, 横井克彦, 安田松夫, 西野 甫, 横山理雄, 春田三佐夫: *食品と微生物*, 7, 107~111 (1990).
- 4) Georgala, D. L., Davidson, C. M.: "Food Package" Patent. No. 1, 199,998 (1970) British.
- 5) Wilson, N. R. P., ed: "Meat and Meat Products" p. 73~77 (1981) Applied Science Publishers Ltd., London and New Jersey.
- 6) 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: *日食低温誌*, 20, 127~135 (1994).
- 7) 荻原博和, 蟹江 誠, 矢野信禮, 春田三佐夫: *食衛誌*, 34, 283~288 (1993).
- 8) 小久保彌太郎編, 厚生省衛生局監修: "食品衛生検査指針"

- 微生物編, p. 67~79 (1990) 日本食品衛生協会.
- 9) 柴田寛三: “新・生物統計学序説” p. 87~114 (1985) 創文.
 - 10) Olson, H. C.: *J. Dairy Sci.* **46**, 362 (1963).
 - 11) 森地敏樹: “微生物の分離法” p. 435~444 (1986) R & D プラニング.
 - 12) Vanderzant, C., Nickelson, R.: *J. Milk Food Technol.* **32**, 357~361 (1969).
 - 13) Cowan & Steel 著, 坂崎利一訳: “医学細菌同定の手引” 第2版, p. 62~163 (1977) 近代出版.
 - 14) Dainty, P. H., Shaw, B. G., C. D. Harding., Michanie, S.: “Society for Applied Bacteriology Symposium Series” No. 13. p. 83~100 (1979) Academic Press, London.
 - 15) 金子精一: “微生物の簡易検査法” p. 65~84 (1980) 衛生技術会.
 - 16) 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” p. 403~408 (1987) 建帛社.
 - 17) Buchanan, R. E., Gibbons, N. E.: “Bergey's Manual of Determinative Bacteriology” 8th Ed. p. 217~881 (1975), The Williams and Wilkins Co., Baltimore.
 - 18) 善養寺 浩, 坂井千三, 寺山 武, 工藤泰雄, 伊藤 武: “腸管系病原菌の検査法” p. 24~92 (1985) 医学書院.
 - 19) 日本薬学会編: “衛生試験法・注解・1990” p. 284~285 (1990) 金原出版.
 - 20) Jay, J. M.: “Modern Food Microbiology” 3rd Ed. p. 52~53 (1986) Van Nostrand Reinhold Company, New York.
 - 21) 小久保彌太郎, 梅木富士郎, 春田三佐夫: 食衛誌. **12**, 164~169 (1971).
 - 22) Baker, R. C., Hotchkiss, J. H., Qureshi, R. A.: *Poultry Science.* **64**, 328~332 (1985).
 - 23) Dainty, R. H., Hibbard, C. M.: *J. Appl. Bact.* **48**, 387~396 (1980).
 - 24) Roth, L. A., Clark, D. S.: *Can. J. Microbiol.* **21**, 629~632 (1975).
 - 25) Newton, K. G., Gill, C. O.: *J. Appl. Bact.* **44**, 91~95 (1978).
 - 26) Dubois, G., Beaumier, H., Charbonneau, R.: *J. Food Sci.* **44**, 1,649~1,652 (1979).
 - 27) Christopher, F. M., Vanderzant, C., Carpenter, Z. L., Smith, G. C.: *J. Food Prot.* **42**, 323~327 (1979).
 - 28) Daun, H., Solberg, M., Franke, W., Gilbert, S.: *J. Food Sci.* **36**, 1,011~1,014 (1971).
 - 29) 富岡芳彦, 安田松夫, 土屋恵美子, 横山理雄: 日食工誌. **30**, 25~32 (1983).