

食品衛生学的品質に関連する高加圧ハムの製造工程中における微生物叢および化学的特性

誌名	日本食品保蔵科学会誌
ISSN	13441213
著者	荻原, 博和 河合, 寧子 野川, 真美子 亀坂, 知世 野瀬, 正敏 矢野, 信禮
巻/号	28巻1号
掲載ページ	p. 9-16
発行年月	2002年1月

食品衛生学的品質に関連する高加圧ハムの 製造工程中における微生物叢および化学的特性

荻原博和*・河合寧子*・野川真美子*
亀坂知世**・野瀬正敏**・矢野信禮*

Microflora and Chemical Properties during the Manufacturing Process of Uncooked Loin
Roll Subjected to High Pressure Treatment with Respect to Food Hygienic Quality

OGIHARA Hirokazu*, KAWAI Nene*, NOGAWA Mamiko*
KAMESAKA Tomoyo**, NOSE Masatoshi** and YANO Nobuhiro*

* Department of Food Science and Technology, College of Bioresource Sciences, Nihon University
1866, Kameino, Fujisawa-shi, Kanagawa 252-8510

** Mutter Ham Co., Ltd
2121, Nakanona, Fuchumachi, Nei-gun, Toyama 937-2700

To confirm the safety of the manufacturing process of uncooked meat products subjected to high pressure treatment, changes of microbiological and physicochemical properties of the product were determined. The changes in the number of microorganisms occurring during the manufacturing process, a decreasing trend in the number of bacteria was observed during cold smoking and dry cooling processes, even though an increase was observed during curing, soaking, and dry cooling processes, and a decrease of $10^2 \sim 10^3$ CFU/g was observed during high pressure treatment processing. As regard the number of microorganisms as the manufacturing process proceeded, the number Gram-negative bacteria such as *Pseudomonas* decreased, whereas the number of Gram-positive bacteria such as *Micrococcus* increased. No remarkable changes in the pH value, Volatile basic nitrogen value, Thiobarbituric acid value and Water activity value used to evaluate quality were noted during the manufacturing process. No food borne pathogenic bacteria were detected at any point during the manufacturing process. The amount of bacteria was less than 10^3 CFU/g after 3 hours of pressure treatment at 250MPa, and it was inferred that *E. coli*, *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *P. aeruginosa* and *A. hydrophila* could be inactivated, with the exception of *S. aureus*. From these results, it was concluded that high pressure processed raw ham was a product that could be produced more hygienically and with higher quality than conventional uncooked meat products.

(Received May. 23, 2001 ; Accepted Nov. 27, 2001)

近年、食品の加工技術の進歩により非加熱処理による食品が考案されるようになり、その中でも静水圧を利用した高圧処理は食品への研究や応用^{1)~3)}が進めら

れている。高圧処理による殺菌は研究段階から食品の利用に移り、新しい食品の殺菌方法のひとつとして注目されるようになった。野瀬ら⁴⁾は食肉加工の工程に

* 日本大学生物資源科学部食品科学工学科 (〒252-8510 神奈川県藤沢市亀井野1866)

** 株式会社ムッターハム (〒937-2700 富山県婦負郡婦中町中の名2121)

高圧処理を組み込むことにより、食肉の物性、すなわち軟らかさや風味、色調などの改善や改良を行い、従来の製品とは異なる新しい加工品の製造法を確立した。

高圧処理を施した非加熱食肉製品の製品化にあたっては、食肉加工の製造工程に高圧処理を組み込むことにより、新しい食肉の物性の改善だけでなく、保存性の向上も期待されるが、高圧処理工程の導入により、食品媒介病原細菌や腐敗細菌の汚染により衛生上の危害を及ぼす可能性もある。さらに食品衛生法⁵⁾においても非加熱食肉製品の規格基準（大腸菌100以下/g、黄色ブドウ球菌1,000以下/g、サルモネラ菌属陰性等）にかなう必要があり、これらの製品の衛生上のデータの集積が必要となってきた。

そこで、今回非加熱食肉製品に分類される高加圧ハムの製造工程における微生物学ならびに理化学的な見地から衛生学的な検討を行った。

材料および方法

〔試料の調製〕

1. 高加圧ハムの製造工程

高加圧ハムの製造は一頭の豚から左右のロース部位 (*M. longissimus dorsi*) を使用し、小骨、軟骨、血合い等を除去・整形した。次に整形肉部を6日間ピクル液（食塩15%、硝酸カリウム0.2%、亜硝酸ナトリウム0.15%、グラニュー糖8.0%、ブドウ糖8.0%、グルタミン酸ナトリウム1.5%、L-アスコルビン酸ナトリウム0.5%、香辛料0.1%、水66.55%）に塩漬した。次に冷水で24時間塩出しを行った。脱塩後各ロース部を約1kg程度にカットして10本の肉塊を作製し、ファイブラスケーシングに充填した。その後、熟成工程に入り、20℃・湿度80%で15時間以上乾燥し、同様の温度・湿度で桜チップを用い冷燻室で6時間の冷燻を行い、再び12時間以上の乾燥を行った。その後塩化ビニリデンフィルムを用いて真空包装を行い、最後に高圧処理装置（スギノマシン社製；HPV-25015-02）で250MPa・3時間の加圧処理を行い製品を作製した (Fig. 1)。

2. 製造工程中の高加圧ハムの衛生学的検討

(1) 微生物学的試験 製造工程の各工程から肉塊を採取し、その表面部に5cm×5cmの拭き取り用金属型をあて内枠の表面肉部を無菌的に切り取った。さらに肉塊の中心部からも採取し細片とした。次に各試料をよく混合し、無菌的に10gをストマフィルターに採取し、90mlのpH7.0ペプトン加生理食塩水を加えて、ストマッカー（オルガノ社製；STOMACHER Lab-

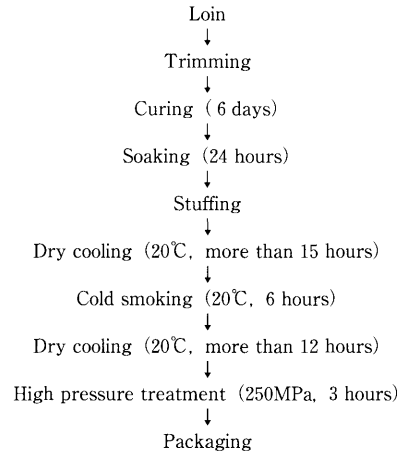


Fig. 1 Manufacturing Process for high pressure processed raw ham

Blender400) で1分間のストマッキング処理を行った。試料原液はpH7.0ペプトン加生理食塩水で適宜希釈を行い、各微生物学検査に使用した。

1) 一般生菌数の測定⁶⁾: PLATE COUNT AGAR (DIFCO社製; PCA培地) を用いる混釈平板法により、35℃・48時間培養し、発育した集落を計測した。

2) 低温細菌数の測定⁷⁾: PCA培地を用いて塗抹平板法で7℃・7日間培養し、発育した集落を計測した。

3) 乳酸菌数の測定⁸⁾: LACTOBACILLI MRS BROTH (DIFCO社製; MRS培地) に寒天を添加して作製した培地を用いて、塗抹平板法により25℃・72時間、嫌気チャンバー内 (ANAEROBIC SYSTEM; FORMA SCIENTIFIC社製) で培養した。培養後平板に発育してきた集落を計測した。

4) 嫌気性菌数の測定⁹⁾: GIFU ANAEROBIC MEDIUM AGAR (日本製薬社製; GAM培地) を用いて、塗抹平板法で25℃・72時間、嫌気チャンバー内で培養し、平板に発育してきた集落を計測した。

5) 大腸菌群数の測定¹⁰⁾: DESOXYCHOLATE AGAR (栄研化学社製; DESO培地) を用いて、混釈平板法で35℃・24時間培養し、平板に発育してきた赤色集落を計測した。

6) 大腸菌の検出¹¹⁾: FLUOROCULT LMX BROTH (MERCK社製; LMX培地) を用い、MPN法で35℃・24時間培養を行った。その結果、UVランプにより蛍光を発し、インドール試験陽性の場合を大腸菌陽性として最確数表より菌数を算出した。

7) サルモネラ属菌の検出¹²⁾: サルモネラの検出には、ENTEROBACTERIACEAE ENRICHMENT

MANNITOL BROTH (日水製薬社製; EEM培地) を用いて、35℃・24時間培養し、次に選択性の SELENITE BROTH (栄研化学社製; セレナイト培地) に再び接種し、同様に培養した。これらの培養液をさらにMANNITOL LYSINE CRYSTAL VIOLET BRILLIANT GREEN AGAR (日水製薬社製; MLCB培地) に画線し、35℃・24時間培養し、黒変集落が確認された場合には、これらの菌を純粋分離し、LYSIN INDOLE MOTILY AGAR (栄研化学社製; LIM培地)、TRIPLE SUGAR IRON AGAR (栄研化学社製; TSI培地) 等の性状試験を行い、サルモネラ属菌の確認を行い、MPN法で菌数を算出した。

8) 黄色ブドウ球菌の検出⁵⁾: 7.5%NaCl加 TRYPTICASE SOY BROTH (BBL社製; TSB培地) を用いて、35℃・48時間培養を行い、次に卵黄加MANNITOL SALT AGAR (栄研化学社製; MSEY培地) に画線し、典型的な集落を確認した。

9) クロストリジウム属菌の検出⁵⁾: CLOSTRIDIA COUNT AGAR (日水製薬社製; クロストリヂア培地) を用いて、パウチ法で35℃・24時間培養し、黒変集落が確認されたものについては、純粋分離した後、卵黄加CLOSTRIDIUM WELCHII AGAR (日水製薬社製; CW培地) で確認を行った。

10) 菌叢解析: 製造工程中の汚染微生物叢の検出は、PCA培地を用いて平板塗抹法で行い、培養温度は25℃・72時間培養し、平板に発育してきた集落を計測した。計測後の平板から無作為に34~36菌株を釣菌し、PCA平板で同様に培養し各菌の純粋分離を行った。菌属の同定は集落の形態、色素産生、好気、嫌氣的発育性、生化学的な性状を求め簡易同定法¹¹⁾により行い、分離菌株の割合を百分率で示した。

(2) 理化学的試験 理化学的試験では微生物学的試験と同様に採取した中心部の肉部のみを試料に用いた。

1) pH: 試料肉 5 gは細片とした後、蒸留水を20ml加えて混合し、肉片を濾過した後、pHメーター (堀場社製; pH METER F-23) で計測した。

2) 揮発性塩基態窒素量 (VBN): コンウェイユニット (柴田科学器械工業社製) を用いる方法¹²⁾で行った。

3) TBA値: 脂肪の酸化度はチオバルビツール酸を用いる方法¹³⁾に準じて行った。

4) 塩分: 電極型食塩濃度計 (堀場社製; SH-7) により行った。

5) 水分活性: 水分活性測定器 (Rotronic社製;

HYDROSKOP DP) により測定した。

6) 亜硝酸根残存量の測定: 肉の亜硝酸根の定量は比色法¹³⁾により行った。

3. 指標菌および食品媒介病原細菌の高加圧処理による死滅効果の検討

(1) 供試菌株 使用した菌株は、指標菌として *Escherichia coli* IAM 1264の1菌株、食品媒介病原細菌では *Salmonella* Enteritidis IFO 3313, *Salmonella* Typhimurium IID 1000, *Pseudomonas aeruginosa* IFO 3445, *Aeromonas hydrophila* subsp. *hydrophila* IFO 13286, *Staphylococcus aureus* FDA 209Pの5菌株、合計6菌株を使用した。*A. hydrophila*はBHI培地を用いて30℃・24時間、他5菌株は35℃・24時間それぞれ2代継代培養を行ったものを使用した。

(2) 供試菌株の測定法 *E. coli*は微生物学試験の5)に準じ、DESO培地を用いて35℃・24時間培養し、典型的な集落を計測した。*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*は微生物学的試験の7)に準じ、分離培地はDESOXYCHOLATE HYDROGEN SULFIDE LACTOSE AGAR (栄研化学社製; DHL培地) を用いて、35℃・24時間培養し、典型的な集落を計測した。*A. hydrophila*はDHL培地を用いて、30℃・48時間培養し、発育した典型的な集落を計測した¹⁴⁾。*P. aeruginosa*はNALIDIXIC ACID CETRIMIDE AGAR (栄研化学社製; NAC培地) を用いて、35℃・48時間培養し、発育した典型的な集落を計測した¹⁵⁾。*S. aureus*は微生物学試験の8)に準じ、MSEY培地を用いて、35℃・48時間培養し、典型的な集落を計測した。

なお、各平板の典型的な集落は、簡単な性状試験を行い確認後計測を実施した。一方、平板に検出されなかった各試料については、NUTRIENT BROTH (BBL社製; NB培地) に試料原液を接種し、増菌培養後、再び各選択培地に接種し、発育の有無と簡単な性状試験を行った。

(3) 菌液の調製と接種方法 各菌株を培養した後、冷却遠心分離機 (コクサン社製; H-200NR) を用いて8,000rpm・10分間の遠心分離を行い、上澄み液を除去した後、リン酸緩衝液に懸濁し、この操作を2回繰り返す、菌液を調製した。一方、接種するための高加圧ハムは、前述した製造工程で製造された加圧処理前の行程のもの、すなわち2回目の冷乾終了後の試料を使用した。これらは接種実験のために無菌的に一定の大きさにカットおよび挽肉にしたものを作製した。これらに食品媒介病原細菌を10³CFU/g程度になるように接種し、真空包装を行った。調製された試料は高

圧処理装置（スギノマシン社製，HPV-80C20-S）を用いて，加圧媒体は精製水を使用し，250MPa・3時間加圧処理を行った。各菌の検出および定量は（2）供試菌株の検出・測定法により行った。

なお，加圧処理前の試料は対象とする菌の汚染の確認も同様の方法で実施した。

結 果

1. 製造工程中での高圧ハムの衛生的検討

（1）製造工程中での微生物の推移 原料のロース肉から高圧処理までの製造工程中の菌数の推移をTable 1に示した。

食肉製品の製造において菌数の低い原料を使用することが衛生的に重要であることから，原料肉の各菌数を調べたところ，表面部では生菌数が 1.9×10^3 CFU/g，乳酸菌や大腸菌群は300CFU/g以下で，衛生学上問題となるサルモネラ菌属，黄色ブドウ球菌，大腸菌，クロストリジウム菌はいずれも検出されず，衛生的に問題のない原料肉であった。次に肉塊を整形・塩漬した後の表面部では，菌数が 10^3 から 10^5 CFU/g，乳酸菌数は<300から 10^2 CFU/g，嫌気性菌数は 10^2 から 10^3 CFU/gと菌数が増加する傾向が認められた。さらにこれらの余剰の塩を取り除くための塩出し工程と冷乾工程では生菌数の変動が見られなかったのに対して，乳酸菌，嫌気性菌数は増加する傾向を示した。しかし，冷燻工程に入ると各菌数とも， $10^1 \sim 10^2$ CFU/gの減少が認められ，さらに最終の高圧工程後では，生菌数が 10^2

CFU/gと製造工程中で最も菌数の減少が認められた。特に嫌気性菌数や乳酸菌数は<300CFU/gとなり，汚染菌数の菌数削減に効果があることが確認された。衛生指標菌である大腸菌群数は製造工程中はいずれも<300CFU/gで，さらに各食品媒介病原細菌についてはいずれも製造工程からは検出されず，問題のない製品であると思われた。中心部でもすべての検査項目での菌数は，<300CFU/gで食品媒介病原細菌も検出されなかった。

製造工程中の微生物叢についてはTable 2に示した。原料肉から検出された代表的な菌属はグラム陰性菌の*Pseudomonas*が29.4%，*Moraxella*が14.7%，*Acinetobacter*が8.8%等が主要なもので，グラム陽性菌では*Micrococcus*が11.8%と多く検出された。肉塊をピクル溶液に浸漬した工程ではグラム陰性菌が検出されなくなり，グラム陽性の*Micrococcus*が大勢を占め，菌叢の交代が認められた。次に塩出し工程では再びグラム陽性の*Coryneforms*やグラム陰性の*Acinetobacter*が検出され，水由来の汚染が推定された。グラム陽性菌はいずれも*Micrococcus*が44.1%，*Coryneforms*が23.5%と高い割合で検出された。第1冷乾および冷燻工程では*Micrococcus*，*Staphylococcus*の占める割合が高まり，特に*Micrococcus*が60%以上を占めた。さらに第2冷乾工程においても*Micrococcus*の占める割合は増加し，製造工程中で最も高い73.5%を示した。これに対して*Lactobacillus*，*Acinetobacter*は検出されず，前工程での燻煙に加え，長時間の乾燥により，製品表面

Table 1 Microbiological results obtained the manufacture of high pressure processed raw ham (CFU/g)

Process	Portion	Standard plate counts	Lactic acid bacteria counts	Anaerobic bacteria counts	Coliforms	<i>Escherichia</i>		<i>Staphylococcus</i>		Clostridium
						<i>coli</i>	Salmonella	<i>aureus</i>		
Raw loin	Outside	1.9×10^3	<300	1.6×10^2	<300	-*	-	-	-	-
	Inside	<300	<300	<300	<300	-	-	-	-	-
After curing	Outside	5.9×10^5	2.6×10^2	8.6×10^1	<300	-	-	-	-	-
	Inside	<300	<300	<300	<300	-	-	-	-	-
After soaking	Outside	1.4×10^5	3.2×10^3	2.6×10^1	<300	-	-	-	-	-
	Inside	<300	<300	<300	<300	-	-	-	-	-
After dry cooling	Outside	1.7×10^5	1.7×10^5	3.6×10^2	<300	-	-	-	-	-
	Inside	<300	<300	<300	<300	-	-	-	-	-
After cold smoking	Outside	1.2×10^4	2.0×10^3	4.1×10^1	<300	-	-	-	-	-
	Inside	<300	<300	<300	<300	-	-	-	-	-
After dry cooling	Outside	9.1×10^4	2.8×10^3	3.6×10^1	<300	-	-	-	-	-
	Inside	<300	<300	<300	<300	-	-	-	-	-
After high pressure treatment	Outside	3.7×10^2	<300	<300	<300	-	-	-	-	-
	Inside	<300	<300	<300	<300	-	-	-	-	-

* : Not detected

の水分活性が低下し、検出される菌属が減少したものと推測された。加圧工程後でも *Micrococcus* の割合は高く 55.9% を占め、グラム陽性菌が優勢となった。特に *Micrococcus* は製造工程初期の段階から製品になるまで優占属として推移した。

(2) 製造工程中での理化学的变化 理化学的試験の結果を Table 3 に示した。高加圧ハムに使用する原料肉の pH は 5.77、VBN 値は 10.92mg%、TBA 値は 0.20 で腐敗や変敗の徴候は認められなかった。製造工程中での各工程の検査結果は pH が 5.15~5.89 の範囲で推移し、顕著な変化は認められなかった。腐敗の指標とされる揮発性塩基態窒素量は製造工程が進むにつれて、数値が 3.92 から 9.24 と高くなるものの、きわめて新鮮の範囲内であった。肉の酸化に関与する TBA 値は製造工程中一連の数値の上昇は認められず、0.20~0.59 の範囲で数値は変動した。塩分量は塩濃度 15% のピクル溶液に浸漬した直後は、6.67% と高い数値を示し

たものの、塩出し工程以降では低下し 3% 前後の数値で推移した。水分活性は豚コースの試料を除き、0.95~0.97 の範囲で推移した。亜硝酸根残存量は塩漬後 32.5ppm と高くなった。しかし、製造工程が進行するにつれて数値は低下し、製造工程中では 70ppm を越えるものではなく、最終工程の加圧後でも非加熱食肉製品の規格内の数値で推移した。なお、製品は異臭、ネトやドリップなどは認められなかった。

2. 食品媒介病原細菌の高圧力による死滅効果の検討

指標菌および食品媒介病原細菌を接種したハムについて加圧処理を行った結果を Fig. 2 に示した。

Fig. 1 の製造工程に準じて製造された加圧処理の前段階試料に、6 菌種を対数で 3CFU/g 程度、すなわち実際に汚染の可能性のある菌量を接種した。接種したハムは 250MPa・3 時間の高圧処理を行った。その結果、グラム陰性菌の *E. coli* IAM 1264, *S. Enteritidis* IFO 3313, *S. Typhimurium* IID 1000, *P. aeruginosa*

Table 2 Microflora results obtained the manufacture of high pressure processed raw ham

Organisms	Raw loin	After curing	After soaking	After dry cooling	After cold smoking	After dry cooling	After high pressure treatment
<i>Aeromonas</i>	1 (2.9)*	-**	-	-	-	-	-
<i>Acinetobacter</i>	3 (8.8)	-	3 (8.8)	1 (2.9)	1 (2.9)	-	-
<i>Moraxella</i>	5 (14.7)	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas</i>	10 (29.4)	-	-	1 (2.9)	-	-	-
<i>Lactobacillus</i>	-	-	2 (5.9)	2 (5.9)	3 (8.8)	-	-
Coryneforms	2 (5.9)	-	8 (23.5)	-	4 (11.8)	5 (14.7)	6 (17.6)
<i>Staphylococcus</i>	-	-	-	3 (8.8)	4 (11.8)	4 (11.8)	2 (5.9)
<i>Micrococcus</i>	4 (11.8)	34 (100)	15 (44.1)	24 (70.6)	22 (64.7)	25 (73.5)	19 (55.9)
Yeasts	2 (5.9)	-	2 (5.9)	2 (5.9)	-	-	-
Other bacteria	7 (20.5)	-	4 (11.8)	1 (2.9)	-	-	7 (20.6)
Strain number (%)	34 (99.9)	34 (100)	34 (100)	34 (99.9)	34 (100)	34 (100)	34 (100)

* : Number of isolated strains (%)

** : Not detected

Table 3 Chemical results obtained the manufacture of high pressure processed raw ham

Process	pH	VBN (mg%)	TBA	Salt content (%)	Water activity	Sodium nitrite content (ppm)
Raw loin	5.77	10.92	0.20	tr.*	0.98	tr
After curing	5.89	4.29	0.59	6.67	0.95	32.50
After soaking	5.61	3.92	0.28	3.60	0.96	12.50
After dry cooling	5.58	4.20	0.39	3.03	0.96	7.50
After cold smoking	5.15	5.04	0.59	2.93	0.97	3.30
After dry cooling	5.33	6.72	0.44	3.67	0.96	2.80
After high pressure treatment	5.49	9.24	0.54	3.93	0.96	3.70

* : traces

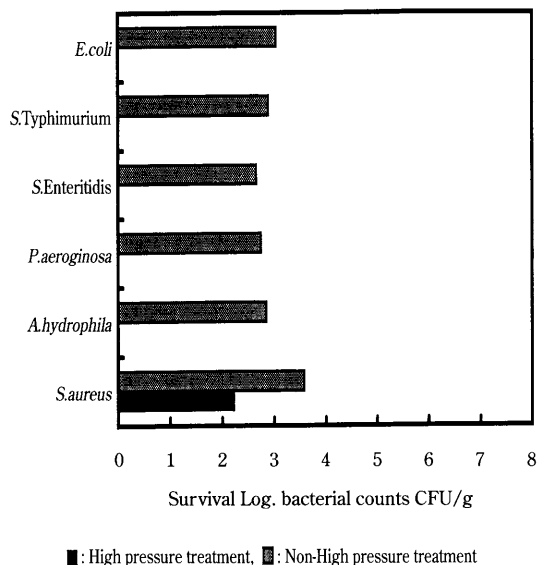


Fig. 2 Survival of indicator and some food borne pathogens bacteria inoculated in cured ham after high pressure treatment at 250 MPa for 3 hours

IFO 3445, *A. hydrophila* IFO 13286の5菌種はいずれも検出されなかった。しかし、グラム陽性菌の*S. aureus* FAD 209Pについては対数で2 CFU/gの残存が確認され、約1オーダーの菌数減少にとどまり、これらの250 MPa・3時間の圧力では*S. aureus*を完全に死滅することはできなかった。

なお、実験に使用したハムからは、接種した同種の菌は検出されなかった。

考 察

昭和57年に食品衛生法の施行規則及び食品、添加物等の規格基準の一部が改正された。それに伴いわが国で製造、販売が認められなかった非加熱食肉製品の製造が許可され、販売されるようになった。これらの製品は多量の食塩と乾燥により水分活性を低下させ、安全性に考慮した製品であったが、塩分濃度が高く消費者からは減塩された製品が望まれていた。その後、食肉処理工程の衛生技術の改善、食品の製造や保存技術等の向上により、平成5年に食品衛生法の非加熱食肉製品の規格基準が改訂⁵⁾された。特徴的な点は、成分規格の水分活性が0.94以下の製品では保存温度を10℃以下、0.95以上の製品では4℃以下で保存を行えば、水分活性にこだわらない新しい製品開発が可能となった。

このような背景から高加圧ハムも非加熱食肉製品の

製造方法に準拠した製品として開発されたものであるが、危害を確実に防御できる殺菌工程がないことから、製造には細心の注意を払う必要がある。そこで高加圧ハムにおける製造工程中の理化学的および微生物学的なデータの蓄積が必要と考え検討を行った。

高加圧ハムを製造するに当たり、原料肉の汚染菌数を極力抑え、さらに食中毒起因菌の汚染も防止しなければならない。今回、原料として使用された豚肉を検査したところ、いずれも食品媒介病原細菌は検出されず、汚染菌数も低いことから、良好な製造原料であると推察した。

非加熱食肉製品の製造工程には有効な殺菌工程がないため、製造中においても食品媒介病原細菌や汚染菌の増殖を抑制する必要がある。たとえば食品衛生法の食肉製品の製造基準⁵⁾では塩漬けに用いる塩水は食塩15%、亜硝酸ナトリウム200ppm以上と規定している。これは塩漬中に発育する病原菌や毒素の産生を抑制するためのものと思われるが、実際の塩漬工程では病原菌の発育は認められず抑制効果が確認された。しかし、雑菌が増加する傾向が認められることから、この塩漬工程中での雑菌の増殖抑制が達成できれば、さらに良好な製品の製造が可能になるとと思われる。

豚肉を取り巻く微生物はグラム陰性菌の*Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacte*等が多く検出されているが、これらは一般的に豚肉に分布^{16), 17)}する菌属である。なかでも低温に保存された生肉に存在し、腐敗に関与するグラム陰性の*Pseudomonas*が^{17), 18)}主体を占めており、製品後の品質に影響を与える可能性が考えられる。しかし、これらの細菌も塩漬工程後には高濃度の食塩中に発育できるグラム陽性の*Micrococcus*に変遷する事が確認され、高濃度の食塩によりグラム陰性菌が排除されたものと思われる。一方、塩出しや冷燻後では再びグラム陰性菌等が検出されたことにより環境からの汚染も考えられ、これらの工程でも細菌の汚染防止に注意が必要と思われた。

次の燻煙工程では塩漬された肉塊に燻製成分を付着させる事により、製品の嗜好性を高めるためだけでなく、燻煙成分に含まれる酢酸を主体とした有機酸、アルコール類、フェノール類、アルデヒド類などが、肉塊の微生物に対して殺菌的に作用し、菌数が減少したものと推測された。

今回、製造工程に導入された高圧処理は微生物を死滅させる効果があり、特に500MPa以上では食品媒介病原細菌の不活化が期待できる^{19), 20)}。このように高い圧力での処理は細菌の死滅に有効であるが、高圧装置

が非常に高価なものとなる。一方、食肉製品への影響は肉タンパクに多くの問題を発生させることが知られている。なかでも色調に関しては影響が大きく、加圧圧力が高いとミオグロビンが変性し、肉自体の色調を白濁させ、商品価値を低下させる。したがって食肉製品への利用には、実用性の面から耐圧容器の大型化が可能な比較的低い圧力（350MPa以下）での検討が必要となる。そこで350MPa以下の圧力について検討を行ったところ、350MPaでは食肉の色調に影響を与えることが確認され、また150MPaでは有効な殺菌効果が得られないことが確認された。これらのことから肉色への影響が少なく、しかも殺菌効果が得られる250MPaが良好と判断し、導入した⁹⁾。今回用いた250MPa・3時間の処理条件では、低レベルの*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *P. aeruginosa*, *A. hydrophila*であれば死滅させることが可能であることを明らかにした。しかし、*S. aureus*については有効な効果が得られず、残存する可能性が考えられる。したがって高加圧ハムの製造においては*S. aureus*の汚染防止と発育抑制の対策が重要と考えられる。実際の製造工程に応用した結果では、加圧後の菌数が 10^4 から 10^2 CFU/gに減少し、製造工程の中で最も高い殺菌効果が認められている。特に菌叢がグラム陽性球菌主体のため、高圧に耐性な菌が多く残存し、菌数削減に著しい効果が認められないものの、多くの陰性菌はこの処理により死滅するものと推察され、豚肉を腐敗させるグラム陰性菌等の減少には効果があると思われる。

一方、わが国の非加熱食肉製品の代表である生ハムの菌叢について比較してみると、GOTOHら²¹⁾によればLactobacillaceaeが主要なもので、大腸菌群陽性の製品にはLactobacillaceaeだけでなく、Yeast, Micrococceae, Streptococcaceaeなどの割合も高いとしている。さらに製造工程中の変化については、燻煙工程後に*Bacillus*や*Pseudomonadaceae*が減少したのに対してLactobacillaceaeが増加する傾向が認められている。筆者の報告²²⁾でも塩漬工程前では多くの微生物が検出されるが、塩漬後には*Micrococcus*が主要なものになり、燻煙工程後には一転して*Lactobacillus*が優勢となる菌叢を示している。高加圧ハムのデータではいずれも*Micrococcus*が主要となる結果を示したが、このような傾向は生ハムでは少ないが、中島ら²³⁾も確認している。これらの菌叢の相違は屠畜場での処理の仕方や製造工程での製造方法の違いによるものと思われる。

生ハム製造工程中の食品病原媒介細菌の消長については小久保ら²⁴⁾によって検討されているが、製造工程

中での*S. Typhimurium*の推移は燻煙後に陰性となったのに対して*C. perfringens*や*B. cereus*は減少する傾向を示すものの、製造工程中では残存することを報告している。SHIGEHISAら²⁵⁾も製造工程中における食品媒介病原細菌の推移を検討しているが、*Salmonella*と*E. coli*は塩漬後に減少する傾向を示すが、*S. aureus*は減少せず、肉塊内部に残存する可能性があるため、原料肉の取り扱いには衛生的に行い、消費者に届けられるまで増殖を予防することが重要であると結論づけている。今後は製造された高加圧ハムの低温保存中における食品媒介病原細菌の推移についても検討が必要であると思われる。

以上のことから、加圧処理した非加熱食肉製品を製造するうえで重要なことは、病原細菌の汚染を極力防止できれば、250MPaの静水圧は残存する食品媒介病原細菌にダメージを与え、食品の危害防止に寄与できるものと考えられる。さらに汚染菌数の削減はシェルフライフの延長にも効果が期待でき、従来の非加熱食肉製品よりも良い品質のものを供給できると考えられる。

要 約

高圧処理を施した非加熱食肉製品の製品化にあたり、製造工程における安全性を確認するために微生物学的ならびに理化学的検査を実施した。

製造工程での微生物の推移は、塩漬、塩出し、冷乾工程では生菌数が増加する傾向が認められたが、燻煙工程では菌数が減少する傾向を示した。さらに高圧処理工程では 10^2 ~ 10^3 CFU/gの減少が確認され、製品の菌数削減に効果が認められた。微生物叢は製造工程が進むにつれて、グラム陰性菌の占める割合が減少したのに対してグラム陽性菌の*Micrococcus*が増加し、主要菌叢となった。製品の品質を示すpH値、VBN値、TBA値、水分活性値の異常な数値は製造工程中認められなかった。製造工程中において食品媒介病原細菌は検出されなかった。指標菌 (*E. coli*)、食品媒介病原細菌 (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *P. aeruginosa*, *A. hydrophila* and *S. aureus*) を 10^3 CFU/g接種した非加熱ハムに250MPa・3時間の処理をしたところ*S. aureus*を除き、*E. coli*, *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *P. aeruginosa*, *A. hydrophila*は検出されなかった。

以上の結果より、高加圧ハムは従来の非加熱製品より衛生的に良質な製品を製造することができる可能性があることが明らかになった。

謝 辞 研究の一部は食品産業センターの食品安全

性向上技術開発事業研究費により行われたもので、厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 林 力丸編：食品への高圧利用（さんえい出版，京都），（1989）
- 2) 林 力丸編：加圧食品（さんえい出版，京都），（1990）
- 3) 林 力丸編：高圧科学と加圧食品（さんえい出版，京都），（1991）
- 4) 野瀬正敏・岩城 朗・服部真之：高圧技術と密度培養（健康産業新聞社，東京），p.273（1993）
- 5) 厚生省生活衛生局監修：食品衛生小六法（日本法規出版，東京），p.1740（1998）
- 6) 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）
- 7) American Public Health Association：Standard Methods for the Examination of Dairy Products（15th ed.）（American Public Health Association, Inc., Washington, D.C.），p.194（1985）
- 8) 山里一英・宇田川俊一・児玉 徹・森地敏樹編：微生物の分離法（R&Dプランニング，東京），p.435（1986）
- 9) 日本細菌学会教育委員会編：嫌気性菌の分離と同定法（菜根出版，東京），p.12（1982）
- 10) 厚生省生活衛生局監修：食品衛生検査指針 追補Ⅱ 微生物編（日本食品衛生協会，東京），p.28（1996）
- 11) 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：日食保蔵誌，20，127（1994）
- 12) 厚生省生活衛生局監修：食品衛生検査指針 理化学編（日本食品衛生協会，東京），p.269（1991）
- 13) 森田重廣：最新食品加工講座 畜肉とその加工（建帛社，東京），p.114（1982）
- 14) 坂井千三・倉田浩編：食品の衛生微生物検査（講談社サイエンテフィク，東京），p.327（1983）
- 15) 三瀬勝利・井上富士男編：食品中の微生物検査法解説書（講談社サイエンテフィク，東京），p.86（1996）
- 16) GARDNER, G.A.: *J. appl. Bact.*, **28**, 262（1965）
- 17) 小久保弥太郎：食衛誌，12，164（1971）
- 18) NORTJE, G.L., NEL, L., JORDAAN, E., BADENHORST, K., GOEDHART, E. and HOLZAPFEL, W.H.: *J. appl. Bact.*, **68**, 335（1990）
- 19) SHIGEHISA, T., OHMORI, T., SAITOU, A., TAJI, S. and HAYASHI, R.: *International Journal of Food Microbiology*, **12**, 207（1991）
- 20) 荻原博和・人見隆弘・矢野信禮：食衛誌，39，436（1998）
- 21) GOTOH, M.: *Flleischwirtschaft.*, **61**, 1750（1981）
- 22) 荻原博和・水落慎吾・吉田啓子・梅沢勝正・春田三佐夫：東獣畜誌，35，31（1988）
- 23) 中島英夫・中山洋之・鮫島 隆・秋山 茂・鈴木 昭：食衛誌，30，27（1989）
- 24) 小久保弥太郎・神崎政子・神保勝彦・木村貞司・梅沢勝正・齊藤義藏：東獣畜誌，28，75（1980）
- 25) SHIGEHISA, T., YAMADA, R., JAJI, S., SHINAGAWA, K. and SAKAGUCHI, G.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, **47**, 443（1985）
（平成13年5月23日受付，平成13年11月27日受理）