



Title	ソーセージの貯蔵におけるソルビン酸と加熱の効果
Author(s)	三河, 勝彦; MIKAWA, Katsuhiko; 伊藤, 雄康 他
Citation	北海道大学農学部農場研究報告, 21, 59-70
Issue Date	1979-03-20
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/13357
Type	departmental bulletin paper
File Information	21_p59-70.pdf



ソーセージの貯蔵におけるソルビン酸と加熱の効果

三河勝彦**・伊藤雄康**・長橋隆雄*・安井 勉**

・北海道大学農学部附属農場

**北海道大学農学部畜産学科

ソルビン酸とソルビン酸カリウムは、食品衛生法にもとづく厚生省告示で保存料としてその使用基準が定められ、食肉製品にはソルビン酸として2 g/kg以下の使用が認められている。ソルビン酸の抗菌性にはpHによって差の生じる事が知られており、pHの低い時には抗菌力を示す非解離型のソルビン酸が多い。しかしpHの上昇するにつれ解離型の割合が増加して抗菌力が低下する^{8,18)}。ソルビン酸の毒性は低く、ラットに対する経口毒性は、そのLD₅₀がソルビン酸で10.5 g/kg、ソルビン酸ナトリウムではソルビン酸に換算して5.9 g/kg (K-塩では5.8 g/kgマウス)である。可溶性塩の方が低い値を示すのは、ソルビン酸そのままの方が、そのNa-塩やK-塩にくらべて溶解度が低く、吸収されにくいためと考えられている^{3,9)}。

ソルビン酸はこの様に低毒性の保存料ではあるが、昨今の食品添加物に対する消費者の忌避傾向、あるいは自然食品指向を反映して、食肉製品におけるソルビン酸の使用量および頻度は減少する傾向にあると云われる。保存料の使用を減らすためには十分な加熱を行なって殺菌する必要があるが、加熱とソルビン酸の組合せによっていかなる効果が得られるかはあまり研究されていない。本報ではこの問題をソーセージ中の細菌について検討した。

実験方法

実験室製ソーセージ

実験用ソーセージには次の様は原料組成のソーセージエマルジョンを使用した。

豚 赤肉	74.2%
豚 脂肪	25.8%
食塩	25 g/kg(赤肉+脂肪)
こしょう	3 g
オールスパイス	1 g
砂糖	3 g
グルタミン酸ソーダ	2 g
澱粉	20 g
リン酸塩	2 g
水	250 g

ソルビン酸は本研究では水に溶けやすいソルビン酸カリウム(SoK)を使用した。法定限度の2 g/kgのソルビン酸はSoKでは2.68 g/kgとなる。原則として実験にはソルビン酸として各0, 0.5, 1, 2 g/kgを含む4種類のソーセージを製造した。添加の際は、上記の組成で練り上ったソーセージエマルジョン100 gに対して、それぞれの濃度となるようにSoKを溶かした水溶液1 mlを加え、滅菌乳鉢中で十分に混ぜ合せた。この25 gづつをエチレンオキサイドで滅菌した二重のセロファンで包み、団子状に絞ってその上端を綿糸でくくり、75℃30分間ボイルを行なった後、冷蔵庫で1~2時間冷却した。なお、一連の実験に必要なソーセージエマルジョンは、それに必要な量をまとめて練って冷凍保存を行ない、各実験に必要な分をその都度解凍して用いた。

ソーセージ抽出液

上と同様な組成の練り上りソーセージエマルジョン100 gに対し、1.5%食塩水を300 mlの割合で加え、ユニバーサルホモジナイザーで3分間ホモジナイスを行なった。ホモジネートは水浴中で

90°C以上 10 分間の加熱を行ない、冷却した後ガーゼ、牛乳用濾紙（ミルパップ）で濾過を行なった。この濾液は 10,000×*g* で遠心分離を行ない、その上澄をさらに東洋濾紙 No 1 で濾過したものをソーセージ抽出液とした。この抽出液は綿栓試験管に分注し、滅菌を行なった後、別に滅菌蒸留水に溶かしてある SoK を添加した。ソルビン酸 0, 0.5, 1 および 2 g/kg の各実験区に相当する場合の最終濃度は実験の都合上、ソルビン酸としてそれぞれ抽出液に対して 0, 0.042, 0.083, および 0.167% とした。なお、実験は各 2 本づつの試験管で行ない、データは平均値で表示した。

菌数の測定

培地は標準寒天培養基¹⁴⁾を用いた。その組成はポリペプトン（大五）5 g, コウボエキス（Oxoid）2.5 g, グルコース（特級）1 g, 寒天（栄研）15 g, 蒸留水 1 l, pH 7.0 である。希釈液には pH 7.2 のリン酸緩衝液 1.25 ml, 食塩 8 g, 蒸留水 1 l の組成のものを使用した¹⁴⁾。

実験室製 25 g のソーセージの菌数測定には 225 ml の希釈液を用い、5 分間ホモジナイズして 10 倍希釈されたサスペンションを作り、この 1 ml をとってさらに適宜希釈を行なった後、各希釈 2 枚づつの平板を作製して生菌数を測定した。ソーセージ抽出液の場合はそのまま 1 ml を適当な割合に希釈して上と同様に菌数を測定した。

平板の培養は 32°C 保存試料については 32°C, 4°C の低温保存試料については 25°C でそれぞれ 48 時間行なった。ソーセージ試料で 10¹ と 10² 倍希釈のシャーレについては、平板に肉片または脂肪塊が混入して小コロニーとの区別をし難いので、予備実験の結果、96 時間まで培養の延長を行なって算出する事とした。なお拡散集落を防ぐため、平板はすべて重層法で作製した。

使用菌株

Bacillus subtilis AHU 1039 および *Escherichia coli* AHU 1041 は北大農学部応用菌学教室から分与されたものを使用した。低温菌 S 21~24, S 28~30, および S 33 は市販のウィンナソーセージ、または当畜産製造部および実験室製のソーセージから分離した菌で、標準寒天培地上でいずれも 6

°C 1 週間の培養によりコロニーを形成するものである。菌はそれぞれ次節に示す斜面培地に植え継ぎ、*B.subtilis* と *E.coli* は 32°C, それ以外の低温菌は 25°C で培養した。

耐熱性実験

供試菌の移植活性化には次の培地を用いた。斜面培地としてはポリペプトン（大五）10 g, 肉エキス（極東エルリッヒ）10 g, 食塩 1.5 g, 寒天（栄研）15 g, 蒸留水 1 l, pH 7.0 の組成のもの、ブイオン A はポリペプトン 5 g, 肉エキス 5 g, 食塩 0.5 g, 蒸留水 1 l, pH 7.0, またブイオン B は A の成分濃度をそれぞれ 2 倍とした組成のものである。

これらの培地で移植をくり返した菌を口径 18 mm 試験管に入った加熱溶媒（ブイオン A または B）に植菌し、55° または 75°C の恒温槽中で所定温度に達してからそれぞれ 5, 10, 30 分間保持した。加熱の終わった試験管は直ちに氷水で冷却し、続いて規定温度で 48 時間の培養を行ない、菌の発育の有無をブイオンの濁りの有無で判定した。菌の活性化および加熱後の生存確認のための培養温度は、低温菌は 25°C, *E.coli* および *B.subtilis* では 32°C である。

pH

菌数測定用に調製した 10 倍希釈ホモジネートを、または抽出液をそのままガラス電極 pH メーターで測定した。

実験結果

実験室製ソーセージ

ソルビン酸カリウムをソルビン酸としてそれぞれ 0 (SoK 0), 0.5 (SoK 0.5), 1 (SoK 1), 2 g/kg (SoK 2) 含むソーセージを 32°C のインキュベーターで 36 時間迄保存して生菌数の増加を測定した。Fig. 1 に示したように 12 時間では SoK 2 の効果が最も大きく、SoK 1 がこれに次いでいる。しかし SoK 0.5 ではソルビン酸の効果が無添加のものと同程度であった。保存 24 時間を過ぎると、ソルビン酸添加の多少による菌数の差は非常に小さくなり、36 時間では SoK 1 以下が殆んど同じで 2 × 10⁸/g 前後の菌数を示し、SoK

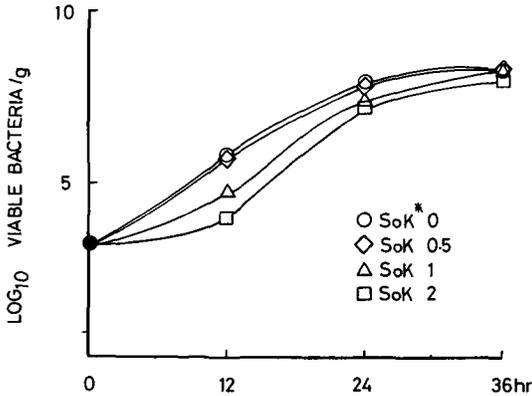


Fig. 1. Effect of sorbate on the growth of bacteria in sausage stored at 32°C

* Potassium sorbate per cent calculated as sorbic acid

2のソーセージにおいては約1/2の 1.1×10^8 /gと僅かに菌数の増加を抑えている結果であった。

同じソーセージを4°Cに保存した結果をFig. 2に示した。この場合、2週間迄の保存では菌の増殖がないため、Fig. 1とは逆にソルビン酸添加試料と無添加のものとの差は殆んど認められず、3週間経過後になって始めてSoK 0とSoK 0.5の試料で若干の菌の増加が認められた。

なお、32°Cおよび4°C保存のいずれの場合も、全保存期間を通じてpHは6.25~6.55の範囲であった。

分離低温菌の耐熱性試験

上記実験で用いたソーセージ、当畜産製造部で製造したソーセージ、および市販のウィンナソーセージからの分離菌株を標準寒天平板に植え、6°C 1週間の培養でコロニーを形成するものを低温菌として、その8株について耐熱性を調べた。実験のための継代移植方法は次のi)またはii)のいずれかで行なった。

i) 保存菌から斜面培地で24時間毎に移植を3回くり返し、これから1白金耳量を10mlの希釈液に浮遊させ、その希釈液1mlをブイヨンA 2.5mlに加えて加熱実験を行なった。

ii) 保存菌から斜面培地で2回の移植と続くブイヨンBでの3回の移植をいずれも24時間毎に行ない、最後のブイヨンの1mlを同じブイヨンB 2.5mlに植えたものについて耐熱性を調べた。

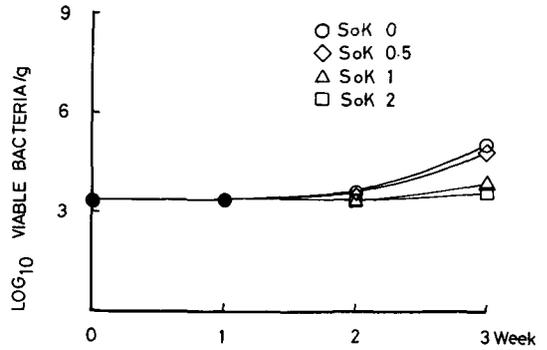


Fig. 2. Effect of sorbate on the growth of bacteria in sausage stored at 4°C

55°Cと75°Cでの5~30分にわたる耐熱性の実験結果をTable 1に示した。55°C 5分の加熱で死滅する菌はS 22, S 23, S 28の3株であった。また75°Cではii)の方法で行なった場合、すべての低温菌が5分以内に死滅した。しかし、斜面培地のみで継代移植を行ない、培地成分の少ないブイヨンA中で耐熱性をテストしたS 21の場合は、ii)の方法で行った場合とは対称的に75°C30分の加熱にも生残った。同時に行なった*E.coli*は55°C10分まで生き残り、*B.subtilis*は75°C30分以上の耐熱性を示した。

ソーセージ抽出液を用いた実験

低温菌からS 21とS 24を選び、これに*E.coli*と*B.subtilis*の2株を加えた合計4菌株を用いて、ソーセージ抽出液中におけるソルビン酸の効果に関する実験を行なった。

S21とS24の特徴は次に示すとうりである^{2,12)}。

	S 21	S 24
Shape	rod	rod
Growth	aerobic	aerobic
Gram-stain	negative	negative
Catalase	+	+
Mobility	+	+
Flagella	polar	polar
Oxidase	+	+
OF-test	oxidative	oxidative
Acid from glucose	+	+
Diffusible pigment	+	-
Nitrate reduction	+	+

Table 1 Heat tolerance of the psychrotrophic bacteria isolated from sausage

Strain No.	Cultural method*	Control	55°C			75°C		
			5min	10	30	5min	10	30
S 21	i)	+	+**	+	+	+	+	+
	ii)	+	+	+	+	-	-	-
S 22	i)	+	-	-	-	-	-	-
S 23	i)	+	-	-	-	-	-	-
S 24	i)	+	+	+	+	-	-	-
	ii)	+	+	+	+	-	-	-
S 28	ii)	+	-	-	-	-	-	-
S 29	ii)	+	+	+	+	-	-	-
S 30	ii)	+	+	+	+	-	-	-
S 33	ii)	+	+	+	+	-	-	-
<i>E. coli</i> AHU 1041	ii)	+	+	+	-	-	-	-
<i>B. subtilis</i> AHU 1039	ii)	+	+	+	+	+	+	+

* See the chapter of results in text

** + : Growth, - : no growth in 48h after heat treatment

以上の性質から、S 21 および S 24 はいずれも *Pseudomonas* 属の菌と推定された^{2,12)}。

これら4株の菌は斜面培地で2回、ブイヨンBで2回、いずれも25°Cで24時間毎に植継ぎ、さらに同じブイヨンBに移植して36時間培養を行なった。これから1白金耳量を各濃度のソルビン酸カリウムを含むソーセージ抽出液5mlに植え、それらに50°、55°、あるいは60°Cで各10分間の加熱処理を行なってから、未加熱区を含めて25°Cで保存培養し、菌の増加割合を測定した。また、未加熱試料は4°Cでも保存培養し、同様な測定を行なった。なお、*E. coli*は耐熱性が低い (Table 1) ので、60°Cの加熱は行なわなかった。菌の増殖はBausch & Lomb社の回折格子型光電比色計を用い、600nmにおける濁度(透過率%)で表示した。各菌につき、前もって標準寒天による生菌数と透過率を同時に測定して、それらの関係が直線的である事を確かめた。なお、*B. subtilis*は生菌数10⁷/ml以上の点(透過率約65%)で急に折れ曲り、これは孢子形成の影響と考えられた。

ソーセージ抽出液のpHはSoK 0では6.40、

SoK 0.5で6.41、SoK 1が6.43、それにSoK 2では6.45であった。

1) 低温菌 S 21: 25°C 保存

Fig. 3に示したように、未加熱の抽出液ではソルビン酸の効果は菌の対数増殖期の阻害にとどまったが、55°C10分の加熱では静止期の延長がSoK 0の試料にもはっきりと認められた。またソルビン酸としての濃度がわずか0.042%であるSoK 0.5区においても、菌の発育抑制効果は大きく、これは加熱とソルビン酸の相乗効果によるものと推察された。60°C10分の加熱ではソルビン酸添加の有無にかかわらず、菌の大きな増殖は見られなかった。以上S 21に対する効果を全体でみると、ソルビン酸が本菌の発育における定常期を低く抑える効果はないものと見うけられた。

2) 低温菌 S 24: 25°C 保存

未加熱および50°C処理の試料では、ともにソルビン酸による阻害が認められたが、添加量による著しい差はなかった (Fig. 4)。60°C10分加熱の場合には相乗効果が現われ、静止期の著しい延長が認められた。全体としては、ソルビン酸がS

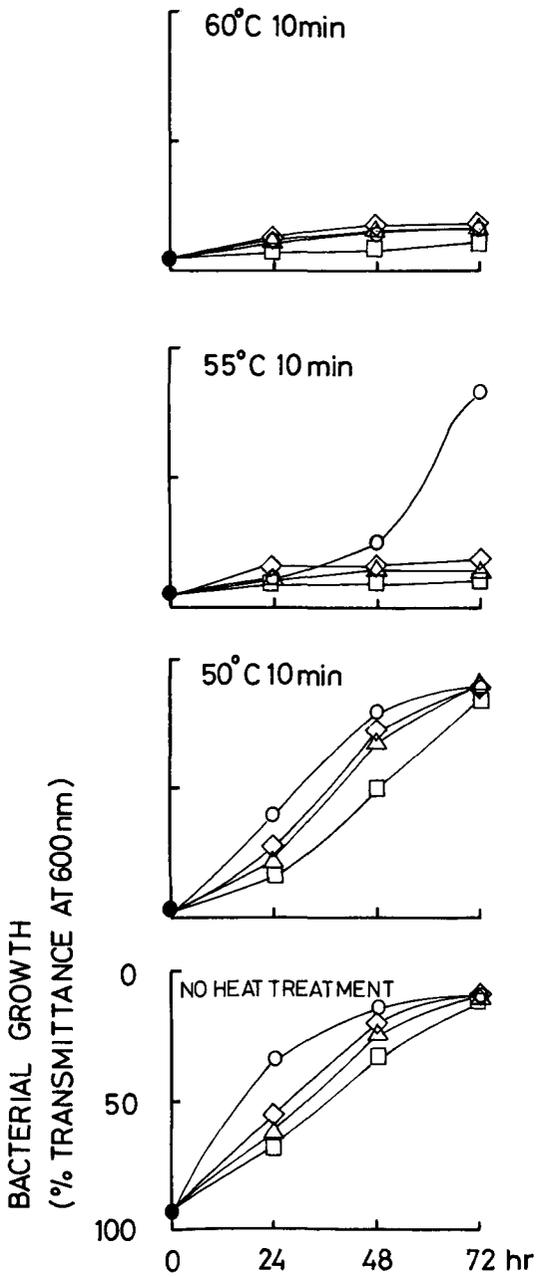


Fig. 3. Effects of heat treatment and sorbate on the growth of psychrotrophic strain S 21 in sausage extract stored at 25°C
 ○SoK 0; ◇SoK 0.5; △SoK 1; □SoK 2

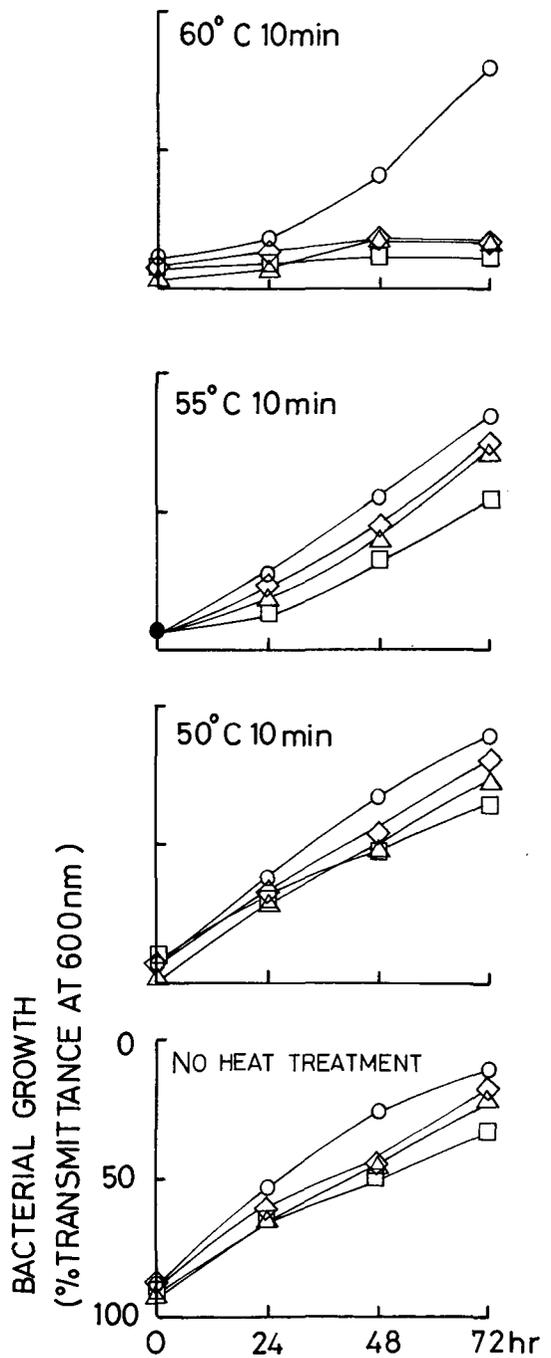


Fig. 4. Effects of heat treatment and sorbate on the growth of psychrotrophic strain S 24 in sausage extract stored at 25°C
 ○SoK 0; ◇SoK 0.5; △SoK 1; □SoK 2

24の定常期の菌数レベルを低下させる効果がうかがわれた。

3) 大腸菌 *E.coli* : 25°C 保存

ソルビン酸による発育阻止効果は、加熱処理を行わないものおよび50°C加熱の試料においては他の菌株にくらべて著しく大きく、また定常期の菌数が低く抑えられる効果も認められた (Fig. 5)。さらに SoK 2 (ソルビン酸として 0.167%) では、未加熱および50°C処理のいずれについても静止期の延長が見られた。また55°C10分加熱試料では低温菌の2菌株の場合と同様に、ソルビン酸と加熱の相乗作用が確認された。

4) 枯草菌 *B.subtilis* : 25°C 保存

枯草菌は芽胞を形成するために一般に耐熱性が高い。このためソルビン酸添加の効果は未加熱区でもわずかに認められるにもかかわらず、加熱との相乗効果と思われるものは60°C10分の加熱試料においてもあまり大きくは現われなかった (Fig. 6)。しかし、定常期の菌数レベル低下の効果を予想させる傾向が認められた。60°C加熱処理で現われた静止期の延長は、枯草菌の増殖型のものの一部が死滅または損傷を受けたためと考えられる。

5) 未加熱試料の4°C保存

低温菌 S 21 と S 24 は4°C20日間でいずれも定常期までの発育を見せたが、大腸菌と枯草菌ではこの温度における発育が非常に弱く、20日間でも透過率がわずか10%前後の変化を示したにすぎなかった (Fig. 7)。後2者におけるソルビン酸添加の効果は、上述のように SoK 0 の試料でも発育が認められないために不明であるが、低温菌 S 21 では対数増殖期の抑制が認められ、培養初期の5日間保存時に最大の効果を現わした。またこの菌では25°C保存の場合 (Fig. 3) と同様に、定常期になるとソルビン酸の効果が殆んど消失した。S 24 の場合、25°C保存 (Fig. 4) のケースとは対称的に、低温ではソルビン酸添加の効果が全く見られなかった。

ソルビン酸の抗菌力におよぼす pH の影響

ソーセージ抽出液の pH を HCl または NaOH で調節して4種類の試料を作成し、これにソルビ

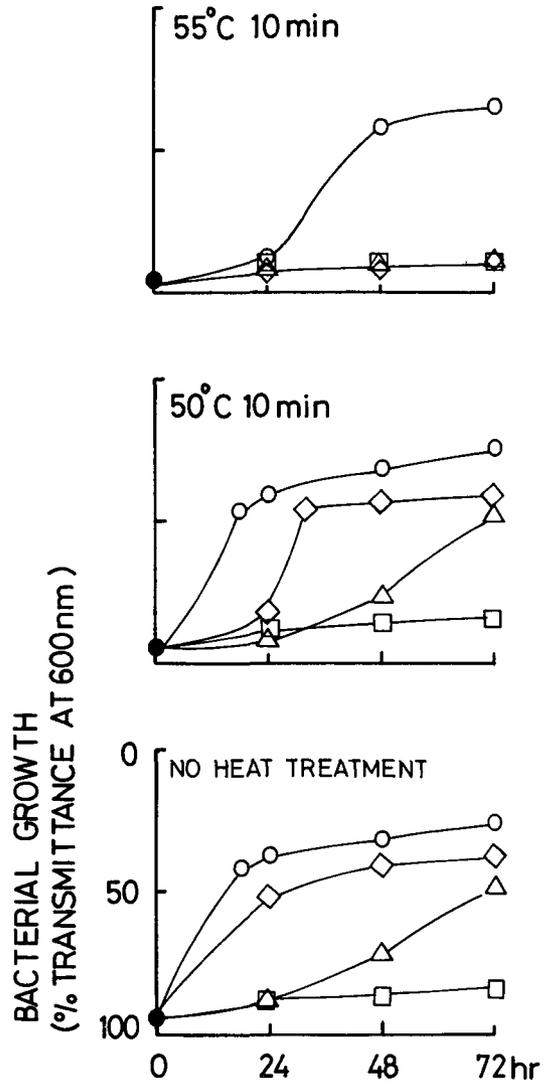


Fig. 5. Effects of heat treatment and sorbate on the growth of *E. coli* in sausage extract stored at 25°C

○SoK 0; ◇SoK 0.5; △SoK 1; □SoK 2

ン酸を0.083%になる様に加えて *E.coli* を植え、25°Cで培養を行なって pH と菌数増加割合を測定した。Table 2にはその pH の変化を表わしてある。ソルビン酸添加によって pH はいずれも少しばかり上昇するが、培養した後ではすべての試料が添加前の pH よりも約0.5単位低い値を示した。またソルビン酸を添加しない試料においても培養後には全体に pH が低下するけれども、それら個々の pH はいずれもソルビン酸添加試料より

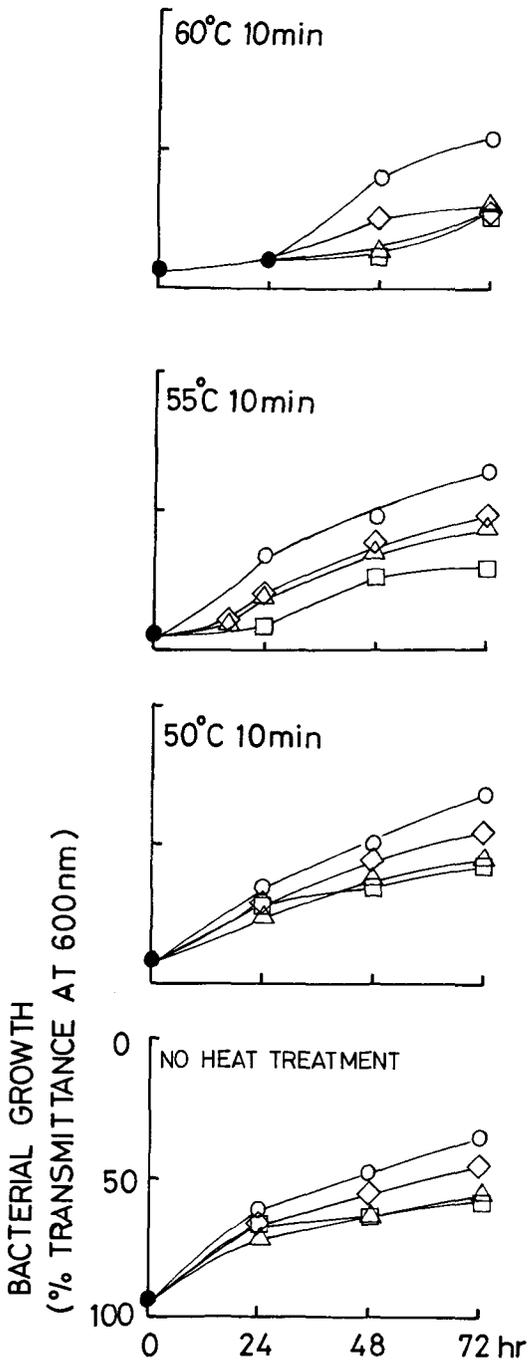


Fig. 6. Effects of heat treatment and sorbate on the growth of *B. subtilis* in sausage extract stored at 25°C
 ○SoK 0; ◇SoK 0.5; △SoK 1; □SoK 2

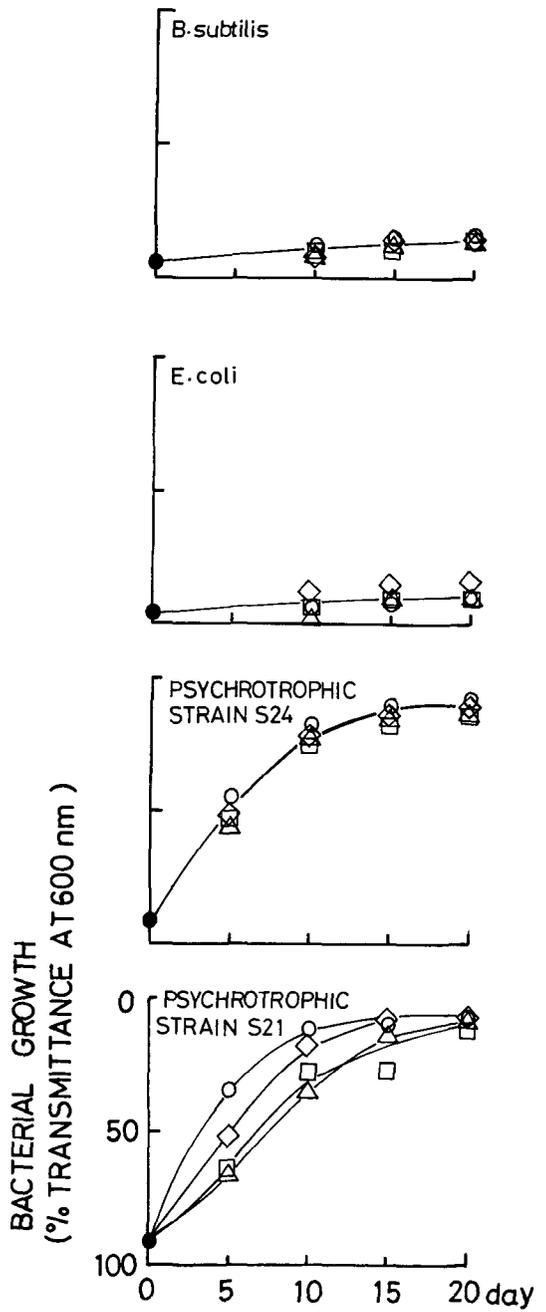


Fig. 7. Effect of sorbate on the growth of 4 strains of bacteria which inoculated into sausage extract and stored at 4°C
 ○SoK 0; ◇SoK 0.5; △SoK 1; □SoK 2

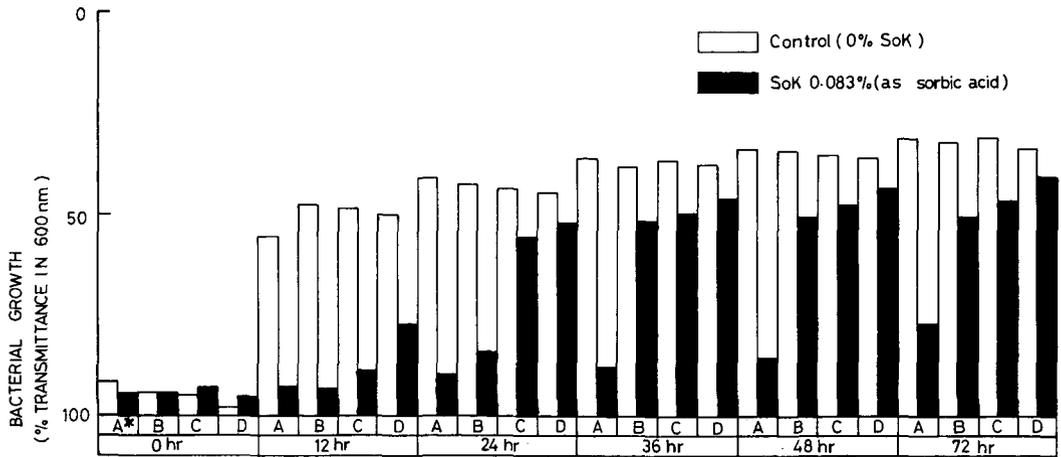


Fig. 8. The effect of pH on the inhibitory power of sorbic acid on the growth of *E. coli* in sausage extract at 25°C

* A : pH 6.2, B : 6.7, C : 6.9 and D : 7.3, see Table 2

もわずかに高い値であった。

大腸菌の増加傾向は Fig. 8 に示したとおりである。pH 6.2 のグループでは 72 時間まで発育抑制効果が認められたのに対し、pH 7.3 の試料では 12 時間で早くも菌増加の傾向が現われ、ソルビン酸の効果は pH の高い所で低下するという一般に云われている現象が確認された。

考 察

ソーセージや肉製品の原料を汚染する細菌には多くの種類がある^{4,10,11,13,19,21)}。それらの中でソーセージとしてボイルされた後に生き残る種類が限定され、これを冷蔵保存する際に発育繁殖してくる菌がさらに限定される事は明らかである。すなわち耐熱性を有する低温菌、あるいは低温で発育可能な耐熱性細菌のみがこの場合に増殖してくる。低温菌は一般には熱に対して非常に敏感であると云われているが、中には耐熱性を持っているものもある²³⁾。また低温で発育可能な芽胞形成菌¹⁶⁾、例えば *Bacillus* 属なども知られている¹⁷⁾。従って本実験ではソーセージから分離した低温菌について耐熱性テストを行ない、ある程度の熱抵抗性を示す菌を選んで使用した。

細菌の耐熱性が実験のさまざまな条件によって異なる結果を示す事は良く知られている。Hurst⁹⁾によれば、加熱などによって与えられた菌の損傷

の回復は培地の成分、pH によって影響される。特に培地の成分については栄養に富んだものが最適とは限らず、菌によっては単純な培地で回復する場合もあるという。また芝崎²⁰⁾は菌数が多ければ死滅させるための加熱時間が長くなると述べている。さらに菌の増殖過程では、対数増殖期の菌よりも静止期や定常期の菌の方が耐熱性は高いとも云われる⁷⁾。

低温菌 S 21 は移植活性化の方法および加熱溶媒の異なる 2 種類の耐熱性実験において、同一加熱時間にもかかわらず 75°C では著るしく異った結果を示した。この差が実験上のいかなる条件の違いに基づくものであるかは不明であるが、i) の方法(結果の本文参照)では、かなり高い耐熱性を示したので、この菌を以後の実験用を選んだ。また S 24 は低温における発育が良好で、55°C 30 分の耐熱性を有する事からこれを採用した。さらに汚染指標菌として最も一般的な *E. coli* と耐熱性を示す *B. subtilis* とを同時に使用した。

ソーセージにおけるソルビン酸の効果を実験する上で、ソーセージそのものを使用する場合には多くの障害が横たわっている。例えば、菌数の少ない場合には希釈倍率を低くするため、コロニーの算定に誤差を出しやすいとか、一度に多くの試料を処理する事が不可能であるとか、あるいはソルビン酸を混和する際に不均一になり易いといっ

様々な難点である。このため、本実験ではソーセージ抽出液を用いる事にした。ソルビン酸の細菌に対する発育阻害効果は、使用する培地の種類によっても異なる事が知られている⁵⁾。ソーセージ抽出液中には香辛料などが含まれるため、通常の細菌培養に用いられる培地や^{1,24)}、脱脂乳中にソルビン酸を加えたもの¹⁵⁾とは違った反応が期待され、よりソーセージそのものに近い値が得られるものと考えられる。

ソルビン酸の効果について広範囲な総説を表わしている樋口⁸⁾によれば、コウボ *Saccharomyces cerevisiae* に対するソルビン酸の効果は静止期に殆んど影響を与えずに、対数増殖期を著しく阻害し、さらに定常期の高さを低下させるという。低温菌をソーセージ抽出液に植えて行なった本実験の結果から、発育曲線に対するソルビン酸の影響は菌株によって異なる事が判った。S 21の場合、定常期の菌数レベルの低下は認められないのに対し (Fig. 3), S 24 ではその低下がうかがわれた (Fig. 4)。この定常期のレベル低下効果は大腸菌 (Fig. 5) や枯草菌 (Fig. 6) でも認められたが、32°Cで保存した実験室製ソーセージ (Fig. 1) では低下が起らず、これはソーセージに含まれる菌叢の違いによるものと思われる¹³⁾。なお、ソルビン酸に対する抵抗性が低温菌でも種類によって異なる事は矢野・森地²⁴⁾も報告し、0.2%のソルビン酸を含む pH 5.8 の普通ブイヨン中でも発育する低温菌のある事を述べている。

実験室製ソーセージおよび抽出液の実験では、

Table 2 The pH change during the storage of sausage extract containing sorbate and *E. coli* at 25°C

		Initial pH	pH after 72h
A	SoK*	6.20	5.43
	Control	6.00	5.54
B	SoK	6.66	6.04
	Control	6.48	6.18
C	SoK	* 6.95	6.33
	Control	6.88	6.44
D	SoK	7.35	6.67
	Control	7.25	6.74

* 0.83 g/l as sorbic acid

その pH はいずれも 6.25~6.55 の範囲内であったが、pH の変化によるソルビン酸の効果を確認するために行なった実験の結果 (Table 2, Fig. 8), 大腸菌に関して低 pH におけるソルビン酸の効果発揮が確認され、同様な条件で *E. coli* について行なった Emard & Vaughn⁵⁾の結果と一致した。しかし Bonner & Harmon¹⁾による実験では pH を 5.0 にまで下げないと同様な効果が得られず、ここではソーセージ抽出液と Trypticase Soy Broth という加熱溶媒の違いが結果に影響をおよぼしたものと考えられる。鈴木・小沼²¹⁾はウインナソーセージ保存中に pH の低下するものがあり、これは乳酸菌が増殖したためであると報告している。本実験の場合は乳酸菌ではなく、*E. coli* の純粋培養であるために保存中の pH が変化した。こうした pH 変化を起さないような菌では、ソルビン酸の効果が当初の pH に大きく左右されるものと思われる。

保存温度を低下させた実験においては、ソルビン酸の効果に 25°C 保存の場合とくらべて大きな違いが認められた (Fig. 7)。Habib⁶⁾によれば 20°C 以下ではソルビン酸の致死効果は殆んどなくなると云う。本実験ではソーセージ抽出液に S 21 を植えた場合、25°C 保存 (Fig. 3) と 4°C 保存 (Fig. 7) の両方にソルビン酸の発育阻止効果が現われており、また実験室製ソーセージを 4°C に保存した場合 (Fig. 2) にもこの効果が認められた。しかし、S 24 を植えた試料では 4°C 保存の場合、その効果が全く発現されなかった (Fig. 4, 7)。大腸菌および枯草菌を用いた低温保存の実験では、ソルビン酸を加えない対照試料においてさえ、この両菌が殆んど発育しないため、その効果についての判定は不可能であった。

本研究の主目的である温度とソルビン酸との相乗効果については、この現象が 55° または 60°C 10 分以上の加熱を行なう事によって低温菌 2 株および大腸菌で認められた (Fig. 3, 4, 5)。これを実際には、熱伝導率の違いなどを考慮しながら、さらに検討を行なう必要がある。

本実験の結果から、この実験条件のもとでは低

温における菌の増殖には、ソルビン酸による発育阻止効果よりも温度を低下させるその事自体による影響がより大きいものと推定される²²⁾。ソルビン酸と加熱の相乗効果も室温に近い温度で保存される時に有効である事から、ソーセージの流通過程において、コールドチェーンシステムによる低温保持が確実に守られるという前提があれば、ソルビン酸の添加は最低に抑えても良いと云う事ができよう。なぜならば、耐熱性を示す低温菌にとって、ソルビン酸の抑制効果が低温ではあまり認められないからである。低温菌は低い温度で発育するのが特徴ではあるが、保存温度を僅かでも、より低下させる事が、他の食品における場合と同様にソーセージ中の菌の発育を抑えるのに有効となろう¹⁷⁾。

実験室製のソーセージは菌数レベルが低い事、および今回は抽出液と純粋培養を用いた実験が主体である事から、実際のソーセージ製造に以上の事を応用するためには、さらに検討を要する点があるものと思われる。

要 約

実験室製ソーセージを用い、これに濃度を変えてソルビン酸カリウム (SoK) を添加し、4°と32°Cでの保存効果につき、生菌数変化を指標として観察した。さらにソーセージの抽出液を作り、加熱、pH、およびSoKが*E.coli*, *B.subtilis*, ならびに比較的热抵抗性の高い低温菌2株 (S 21とS 24) の発育におよぼす影響について、4°と25°Cの両温度で培養し、600 nmにおける透過率を用いて検討した。その結果次の事が判明した。

1. 実験用に製造したソーセージにSoKを加えて32°Cで保存すると、ソルビン酸として1 gおよび2 g/kg添加の試料で防腐効果が認められ、ともに汚染菌の対数増殖期を阻害した。

2. 同じく4°C保存のソーセージでは、2週間保存まではSoK添加と無添加の試料間に差が見られなかったが、3週間後には無添加およびソルビン酸として0.5g/kg添加の試料で菌数が増加した。

3. ソーセージ抽出液を用い25°Cで保存した実

験では、ソルビン酸による静止期の延長、定常期の菌数レベル低下の現象、および加熱とSoKとの相乗作用が菌株により異なる現われ方を示した。

4. ソーセージ抽出液を4°Cに保存した場合、低温菌S 24株においてSoKの効果が全く認められなかったのに対し、同S 21株では主として培養の初期にその効果が現われた。

5. *E.coli*をソーセージ抽出液に植え、25°Cで保存すると、pHが低いほどソルビン酸の効果が大きく現われた。

以上の結果から、本実験条件におけるソーセージを低温貯蔵する際には、ソルビン酸の効果よりも低温保存するための温度低下 (4°C) の方が、その保存性に大きな効果をもたらす事が推論された。

本実験に協力いただいた当農場畜産製造部の板谷一技官、及川昭夫技官および加藤秀雄技官に謝意を表す。本研究の一部は雪印食品kkの奨学寄附金により行なわれたものであり、あわせて謝意を表す。

文 献

- 1) BONNER, M. D. AND L. G. HARMON: *J. Dairy Sci.*, **40**, 1599-1611, 1957
- 2) COWAN, S. T. AND K. J. STEEL (坂崎利一訳): 医学細菌同定の手びき, 第2版, p. 105-164, p. 235-261, 近代出版, 1974
- 3) DEUEL, H. J., JR., R. ALFIN-SLATER, C. S. WEIL, AND H. F. SMYTH, JR.: *Food Res.*, **19**, 1-12, 1954
- 4) DRAKE, S. D., J. B. EVANS, AND C. F. NIVEN, JR.: *Food Res.*, **23**, 291-296, 1958
- 5) EMARD, L. O. AND R. H. VAUGHN: *J. Bacteriol.*, **63**, 487-494, 1952
- 6) HABIB, F.: M. S. thesis, Kansas State Univ., 1960
..... 文献23) より引用
- 7) HANSEN, N. -H. AND H. RIEMANN: *J. appl. Bact.*, **26**, 314-333, 1963
- 8) 樋口亮一: 食品工業, **18** (18), 85-88, 1975; **18** (20), 100-104, 1975; **18** (22), 65-69, 1975; **18** (24), 68-72, 1975; **19** (2), 65-70, 1976; **19** (4), 65-71, 1976; **19** (6), 47-52, 1976; **19** (8), 67-72, 1976
- 9) HURST, A.: *Canad. J. Microbiol.*, **23**, 936-944, 1977
- 10) JAY, J. M.: *J. Milk Food Technol.*, **35**, 467-471, 1972

- 11) KIRSCH, R. H., F. E. BERRY, C. L. BALDWIN, AND E. M. FOSTER : *Food Res.*, **17**, 495-503, 1952
- 12) 駒形和男：微生物の分類と同定，p. 204-245，東大出版会，1975
- 13) 小沼博隆，鈴木昭：食衛誌，**15**，232-242，1974
- 14) 厚生省監修：食品衛生検査指針（I），p. 93，日本食品衛生協会，1973
- 15) MARTIN, J. H., K. S. SU CHUNG, AND L. OGROSKY : *J. Dairy Sci.*, **55**, 1179-1181, 1972
- 16) MICHELS, M. J. M. AND F. M. W. VISSER : *J. appl. Bact.*, **41**, 1-11, 1976
- 17) 三河勝彦：酪農科学・食品の研究，**26**，A 154-163，1977
- 18) 野本正雄，奈良橋快子，新川保太郎：農化，**29**，805-809，1955
- 19) 斉藤不二男：冷凍，**38**，911-917，1963
- 20) 芝崎勲：食品殺菌工学，p. 14-26，光琳書院，1967
- 21) 鈴木昭，小沼博隆：食衛誌，**12**，9-20，1971
- 22) 和田俊，野中順三九，小泉千秋，小沼博隆，鈴木昭：食衛誌，**17**，95-100，1976
- 23) WITTER, L. D. : *J. Dairy Sci.*, **44**, 983-1015, 1961
- 24) 矢野信礼，森地敏樹：畜試研報，**28**，47-56，1974

Effects of Sorbic Acid and Heat-treatment on the Keeping Quality of Sausage

Katsuhiko MIKAWA**, Yūkō ITO**, Takao NAGAHASHI*
and Tsutomu YASUI**

(Experimental Farm* and Department of Animal Science**,
Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, JAPAN)

Summary

The effect of potassium sorbate (SoK) on the keeping quality of an experimental sausage stored at 4° and 32°C was studied by determining viable bacterial count. Effects of heat, pH, and SoK on the growth at 4° and 25°C of *E. coli*, *B. subtilis* and two relatively heat tolerant strains of psychrotrophic bacteria which were inoculated into sausage extract were also estimated by measuring transmittance of the medium at 600 nm.

The results obtained from these experiments were as follows :

1. The growth at 32°C, especially in the logarithmic phase, of contaminated organisms was inhibited in the sausage containing 0.1 or 0.2 per cent (calculated as sorbic acid) of SoK.
2. When stored at 4°C, however, no difference was observable between sausages with and without SoK until two weeks. The increase in bacterial counts occurred in sausages without and with 0.5% of SoK after 3 week storage.
3. Effects of SoK on the lag phase and the stationary phase were also examined on the growth curves at 25°C of the 4 strains of bacteria which had been inoculated into sausage extract. The results indicated the extension of the lag phase and the decrease of the level of organisms at the stationary phase, though they varied with the strains used. When combined with heat-treatment, the synergistic effect of SoK was observed.
4. In the sausage extract stored at 4°C, the growth of psychrotrophic strain S 21 was inhibited by SoK mainly at an early period of storage, whereas that of S 24 was not inhibited at all.
5. The effect of 0.08 % (as sorbic acid) of SoK on the growth rate of *E. coli* at 25°C in sausage extract increased with decreasing pH.

The above results suggest that, upon storage of the sausage under our experimental conditions, the effect of lowering the temperature down to 4°C on the keeping quality is superior to that of the addition of sorbic acid.