

発酵ソーセージにおける低温発酵条件の検討

武山 進一*、荒川 善行*、伊藤 崇**、
中井 博康***

食品衛生法では、発酵ソーセージの製造は低温である20℃以下で行うことが規定されている。発酵温度を18℃に設定し、*Pediococcus cerevisiae*をスターターとする発酵ソーセージの試作を行ったところ、21日間の発酵によって、食品衛生法の常温保存流通の基準を満たす製品を得ることが出来た。つぎに、実験室規模で発酵ソーセージを調製し、低温発酵条件の検討を行った。その結果、乳酸菌スターターの添加量を増加させるとpH低下速度が上昇し、またブドウ糖の添加量は最終的なpHに影響を与えることなど、製品に及ぼす発酵条件の影響が明らかになった。
キーワード：発酵ソーセージ、発酵条件

Examination of Fermenting Condition of Fermented Sausages at Low Temperature

TAKEYAMA Shinichi, ARAKAWA Yoshiyuki, ITOU Takashi
and NAKAI Hiroyasu

In the Food Sanitation Law of Japan, it is provided to manufacture fermented sausages below 20°C. Therefore we set the fermentation temperature at 18°C, and tried to make the fermented sausages by using *Pediococcus cerevisiae* as a starter. As a result, the fermented products made by fermenting and ripening for 21 days gave acceptable Aw and pH in the circulation at normal temperature provided by the Food Sanitation Law. Then, we made the fermented sausage at laboratory scale and examined the fermentation conditions at 18°C. As a result, the increase of added starter culture fastened the kinetics of pH decrease. The final pH was influenced by the amount of glucose added.

key words : fermented sausage, fermenting condition

1 結 言

前報¹⁾では、主原料配合の相違が製造条件及び製品の品質に及ぼす影響を検討するため、岩手県の代表種である日本短角種牛肉単独、及び、ホルスタイン種牛肉と豚肉の合挽き肉を主原料として、*Pediococcus cerevisiae* 菌をスターターとする発酵ソーセージの試作を行ったが、発酵については乳酸菌の増殖が活発に行われる温度条件(35℃)で行った。しかしながら、食品衛生法では、発酵工程も製品温度を20℃以下に保持することが規定されて

いる。本報では、食品衛生法の基準を満たす発酵温度での検討を行ったので報告する。

低温度域での発酵ソーセージ試作試験は、前報までの製造方法との比較のため、発酵温度を18℃に設定し、ケーシング詰め発酵ソーセージを試作した。その結果、発酵熟成期間が長くなったものの、従来とほぼ同様のものが製造可能であることを確認した。

しかしながら、微生物的安全性の観点からは乳酸発酵を出来るだけ速やかに行うべきであり、発酵温度以外の

* 食品開発部
** (株)岩手畜産流通センター
*** 農林水産省畜産試験場

発酵条件を検討する必要が生じた。このことから、ピーカーを用いて発酵ソーセージを調製するモデル実験を行い、スターターの種類、スターター添加量、ブドウ糖添加量の影響について、若干の知見を得たので報告する。

2 実験方法

2-1 ケーシング詰め発酵ソーセージ試作試験

2-1-1 供試菌株

㈱秋田今野商店より入手した乳酸菌株 (*Pediococcus cerevisiae* IFO 3889) を供試した。以後、この乳酸菌を P c と呼ぶ。

スターターの調製は、菌数 $10^8 \sim 10^9$ /g の液体培養物を、液体培地10ml に 500μ l 接種し、37℃にて48時間培養し、遠心分離(3000r. p. m ×10分)して行い、沈殿物をスターターとした。

2-1-2 ソーセージ原料

ソーセージの原料配合を表1に示した。肉をはじめとする原料は、県内の畜肉加工業者より入手した。

表1 ソーセージ原料配合割合 (%)

牛赤肉 (モモ肉)	40
豚赤肉 (モモ肉)	40
ボイル脂肪	20
ブドウ糖	0.3
ホワイトペッパー	0.25
カルダモン	0.1
パプリカ	0.2
ジンジャー	0.1
コリアンダー	0.15
L-グルタミン酸 Na	0.3
アスコルビン酸 Na	0.12
亜硝酸 Na	0.02
食塩	2.2
水	5.0

注 ブドウ糖以下の配合割合は原料肉に対する割合で示した。

2-1-3 発酵ソーセージ製造

P c をスターターとし、18℃での発酵ソーセージ試作製造を行った。これまでの方法^{1, 2)}と同様の方法で作成したソーセージミックスをケーシングに充填し、発酵は、18℃、相対湿度90% (~75%)の条件で21日間行った。途中、発酵開始3日後には、燻煙装置内を氷水で冷却しながら18℃以下に保ち、5時間の冷燻煙を行った。

10日目以降、相対湿度を3%づつ低下させ、75%迄低下させた。発酵熟成工程は、食品衛生法に定められている「非加熱型食肉製品の保存基準」を満たすよう適宜、製品のpHと水分活性(A_w)を測定し、工程を終える

ようにした。

出来上がった発酵ソーセージは、真空包装し冷蔵保存した。

2-2 ピーカーでのモデル実験

2-2-1 検討した供試菌株

㈱秋田今野商店より入手した乳酸菌株 (*Lactobacillus plantarum* ATCC 14917、*Pediococcus cerevisiae* IFO 3889、*Lactobacillus sake* ATCC 15578) を供試した。以後、各乳酸菌を L p、P c、L s と呼ぶ。

スターターの調製は、2-1-1と同様である。沈殿物は0.85%食塩水10ml に溶解し、ソーセージ原料への添加は、1ml/kg とした。

これまでの試験で使用してきたスターターL p、P cに加え、L s を検討対象とした。L s は、低温領域での生育が期待される乳酸菌スターターのひとつである。加藤ら³⁾が牛肉から分離した低温発酵能を有する乳酸菌は、5℃及び10℃でソーセージを発酵し、この菌は *L. sake* と近縁であったとしている。我々がこれまでスターターとして使用してきたL p、P cは中温菌³⁾であり、18℃という温度域での発酵能には不安が生じ、試験にL s を加えることにした。

2-2-2 実験室レベルでの発酵ソーセージ調製

低温領域での良好な発酵条件を検討するため、スターター添加量、ブドウ糖添加量をかえたピーカー詰め発酵ソーセージを試作した。

表1の配合からボイル脂肪を除いたソーセージ原料を、内径3mm のプレート装着したミートグラインダーで挽き、これに乳酸菌スターターを添加した。混合後、乾熱滅菌済み100ml 容ピーカーに約100g づつ詰め、滅菌済みのアルミホイル箔で覆った後、18℃、相対湿度80%の恒温恒湿器に入れ、14日間保存した。

対照として、35℃で72時間発酵させた試料を調製した。

2-2-3 スターター添加量の検討

スターターにL s を用い、スターター添加量を10倍 (10^6 以上/kg)とした試料を調製し、14日間発酵させた。

2-2-4 ブドウ糖添加量の検討

スターター菌株3種類毎に、ブドウ糖添加量を1.0%とした試料を調製し、14日間発酵させた。対照としてブドウ糖添加量を0.3%とした試料を調製した。

2-2-5 発酵期間中のpHと乳酸・酢酸量との関連

発酵期間中のpHと、乳酸菌が産生する酸との量的関連を調べるために、2-2-2及び2-2-4の試料について、乳酸及び酢酸量の測定を行った。

2-3 測定方法

乳酸菌の測定は、BCP加プレートカウントアガール培地にて、35°C72時間培養後、黄色集落を計数した。

pH、Aw及び有機酸の測定用のためには、ソーセージ表面から5mm以上の内側の部分を採取し、測定用試料とした。pHは、測定用試料に等倍の水を加えホモジナイズし、測定した。Awは、測定用試料を細切し、米Decagon Devices社製装置AQUA LAB CX-2で測定した。

乳酸及び酢酸量の測定は、測定用試料4gに水約70ml、10%過塩素酸1mlを添加しホモジナイズ後、100mlに定容し測定用試料溶液とした。これをメンブランフィルターろ過後、(株)東京理化製カルボン酸分析計S-3000型で測定した。

3 結果及び考察

3-1 ケーシング詰め発酵ソーセージ試作試験

発酵温度を18°Cに設定した場合の発酵ソーセージの乳酸菌数、pH、Awの測定結果を表2、図1に示す。

表2 発酵温度18°Cに設定した発酵ソーセージ試作品のpH、Aw、乳酸菌数推移

	pH	Aw	乳酸菌数*
発酵開始	5.81	0.968	5.2×10^5
3日後	5.38	0.974	9.9×10^7
7日後	4.89	0.960	6.6×10^8
14日後	4.86	0.933	
21日後	4.94	0.904	6.5×10^8

* ソーセージ1g当たりの菌数

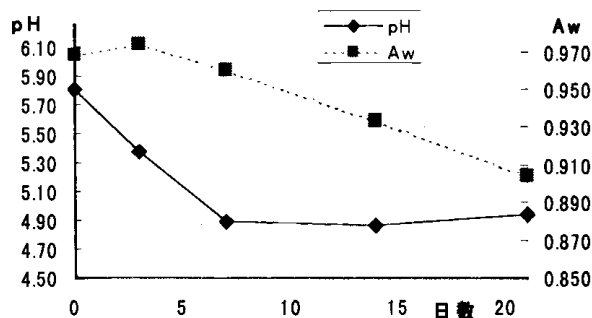


図1 発酵温度18°Cに設定した発酵ソーセージ試作品のpH、Aw推移

発酵初期段階で $10^5/g$ レベルの菌数は、緩やかに増加して7日後に $10^8/g$ に達し、以降 $10^8/g$ 後半が維持された。pHは、乳酸菌数の増加に伴い徐々に低下した。7日後に、pH5.0未満となり、そのレベルが維持された。この結果は、食品衛生法の保存基準（非加熱食肉製品）で規定される常温保存流通のための条件「pH5.1未満でAw0.93未満」を満たすものである。発酵温度18°Cという条件でも、食品衛生法の保存基準を満たす発酵ソーセージが製造できた。

3-2 ビーカーでのモデル実験

ビーカー詰め発酵ソーセージの、18°C発酵品、及びその対照としての35°C発酵品の、pH、乳酸菌数の測定結果を図2、表3に示す。

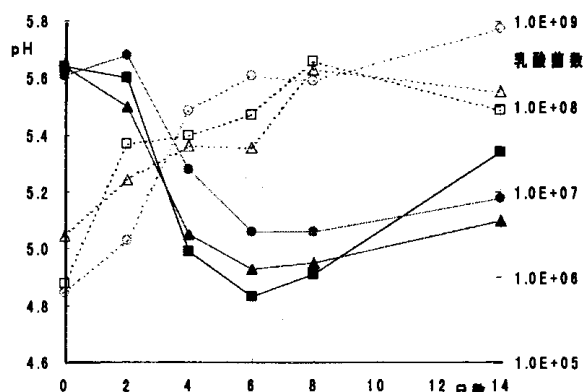


図2 ビーカー詰め発酵ソーセージ(18°C発酵)のpH、乳酸菌数推移

35°Cでの発酵では、30時間後には乳酸菌数が $10^9/g$ に達しpHも5.2付近まで低下した。今回の実験室規模でのビーカー詰め発酵ソーセージは、ケーシング詰め発酵ソーセージ製造に比べると乳酸菌の生育速度は、遅い傾向にあった。これは、後者の方がケーシングへの充填量が多く、より嫌気的な環境になるためと推察された。

18°Cでの発酵は、乳酸菌数が $10^8/g$ に達するのに、6~8日間要した。pHの低下は、乳酸菌の増加傾向よりも速く進んだものの、pH5.0付近で一定化する迄に4~6日を要した。低温域での発酵は、前報迄の35°Cでの発酵に比べ、乳酸菌の生育速度、pHの低下速度が大幅に低下するものであった。

低温域での発酵についての条件の検討として、1)スターターの種類、2)スターター添加量、3)ブドウ糖添加量、について検討した。

表3 ビーカー詰め発酵ソーセージ (35°C発酵)でのpH、乳酸菌数推移

菌の種類	L p		P c		L s	
	pH	菌数	pH	菌数	pH	菌数
発酵開始	5.68	2.6×10^5	5.67	2.6×10^5	5.70	3.0×10^5
18時間後	5.68	1.0×10^8	5.45	2.1×10^8	5.64	1.2×10^8
30時間後	5.17	4.3×10^8	5.21	1.3×10^8	5.19	5.0×10^8
48時間後	4.96	3.8×10^8	4.97	7.0×10^7	4.98	4.4×10^8
72時間後	5.05	4.0×10^8			5.09	3.7×10^8

3-2-1 スターターの種類

これまで行ってきた試作では、35°Cでの発酵においては、L pはP cよりもpHの低下傾向が速いことが確認されている。18°Cでの発酵においてもこの傾向に変わりなく、発酵6日目最もpHが低下したとき、L pはP cよりpHが0.1低下していた。

L sの18°Cでの発酵では、L p、P cと比較するとpHの低下傾向は緩やかで、最もpHが低下してもpH 5.0以上であった。pHの低下が緩やかであることから、食味的な評価に期待がもたれる。

18°Cという温度域での乳酸菌数の増加傾向は、3種のスターターともに差は見られなかった。

3-2-2 スターター添加量

L s スターターを通常の10倍量添加した試験区の、pH、乳酸菌数測定結果を表4に示す。

表4 スターター10倍量添加時のpH、乳酸菌数推移

	通常量添加		10倍量添加	
	pH	乳酸菌数	pH	乳酸菌数
発酵開始	5.61	6.6×10^5	5.58	1.7×10^7
2日後	5.68	2.7×10^6	5.43	1.0×10^7
4日後	5.28	8.9×10^7	5.00	3.1×10^8
6日後	5.06	2.3×10^7	4.88	3.0×10^8
8日後	5.06	2.0×10^7	4.99	3.2×10^8
14日後	5.18	8.2×10^8	5.18	1.4×10^8

添加する乳酸菌数を10倍量増加したことにより、発酵初期における乳酸菌数が著しく高く維持された。また、

pHの低下は速くなり、発酵開始から6日間は10倍量添加区の方が、pHが0.2程下回った。低温域での発酵は、乳酸菌の生育が遅く、pHの低下速度も遅くなってしまい、発酵初期段階での他の菌による汚染が懸念される。この対策として、スターター添加量を増加させることは有効といえる。

3-2-3 ブドウ糖添加量

乳酸菌の栄養源としてのブドウ糖添加量を、これまでの添加量0.3%の、約3倍量にあたる1.0%にして、pH、乳酸菌数を測定した結果を表5に示す。

乳酸菌数は、ブドウ糖1.0%添加区では、発酵4日目に、 10^8 /g オーダーに達したのに対し、0.3%添加区では、6~8日を要した。これはブドウ糖添加により乳酸菌の増殖が進んだことを示している。pHは、0.3%添加区は発酵6日目にpH 4.83 (L p) ~5.06 (L s) で下げ止まり、以降若干上昇した。これに対し1.0%添加区では、発酵6日目以降も下降し最終的にはpH 4.57~4.67迄低下した。

0.3%添加区で確認された、発酵後期のpH上昇は、タンパク質分解で生じた塩基性成分(アンモニア、塩基性アミノ酸)による^{4, 5, 6)}と推察される。乳酸菌発酵が過度に進行した場合、pHは上昇傾向に転じるが、ブドウ糖添加量を多くし、酸の産生量を多くすることにより、pHの上昇傾向を抑制出来ることが示唆された。しかしながら、最終的なpHが、4.5~4.7迄低下してしまうのは食味上好ましくはない¹⁾。ブドウ糖の添加量は、pH

表5 ブドウ糖1.0%添加区のpH、乳酸菌数結果

菌の種類	L p		P c		L s	
	pH	菌数	pH	菌数	pH	菌数
発酵開始	5.58	1.7×10^5	5.58	7.7×10^5	5.60	5.9×10^5
2日後	5.64	1.7×10^5	5.65	3.6×10^7	5.67	2.3×10^6
4日後	5.03	2.4×10^8	5.11	6.2×10^8	5.29	1.1×10^8
6日後	4.66	4.7×10^8	4.82	4.6×10^8	5.02	2.4×10^8
8日後	4.55	4.8×10^8	4.69	4.9×10^8	4.94	3.2×10^8
14日後	4.57	5.5×10^8	4.67	2.5×10^8	4.64	9.2×10^8

の下げ過ぎによる食味への影響を考慮し、かつ発酵後期のpH上昇を抑えられる様、スターターの種類や発酵ソーセージの形態に応じ、適宜添加量を調整する必要があった。

3-2-4 発酵期間中のpHと乳酸・酢酸量との関連

ブドウ糖及びスターターの添加量を通常量とする18℃発酵品について、乳酸菌の産生する主要な酸である、乳酸・酢酸量を測定した。その結果を図3に示す。

14日間の発酵で乳酸は、1.5~2%になったのに対し、酢酸はその1/10以下であった。今回の試験では、LpとPcの乳酸量は発酵6日目にその量が一定化した。これは、乳酸菌が乳酸発酵の栄養源であるブドウ糖を消費してしまったことによる。一方、前記のタンパク質分解による塩基性成分の生成が進むことから、pHは下げ止まり後、上昇に向かうことになる。

ブドウ糖添加量と乳酸量の関連を調べるため、ブドウ糖1.0%添加品の乳酸量を測定した。ブドウ糖1.0%添加品、及びその対照品としてのブドウ糖0.3%添加品の結果を図4に示す。

1.0%添加品は、3種類の菌株とも14日の発酵期間中に乳酸量が一定化することなく増加し続けた。菌の活性が充分であれば、乳酸の産生量は添加ブドウ糖量に比例すると考えられ、これを裏付ける結果となった。

4 結 語

発酵温度を18℃に設定し、Pcをスターターとする発酵ソーセージの試作を行ったところ、21日間の発酵・熟成によって、食品衛生法の常温保存流通条件を満たす製品を得ることが出来た。

つぎに、実験室レベルでピーカー詰め発酵ソーセージを調製し、低温発酵条件の検討を行った。その結果、スターター添加量を増加させるとpH低下速度が速まり、ブドウ糖添加量の増加は最終的なpHを低下させることがわかった。

ブドウ糖の添加量は、pHの下げ過ぎによる食味への影響を考慮し、かつ発酵後期のpH上昇を抑えられる様、スターターの種類に応じて添加量を調整する必要があることが示唆され、今後の課題とされた。

本研究にあたり、乳酸菌を分譲してくださいました、(株)秋田今野商店、今野宏専務取締役に感謝いたします。

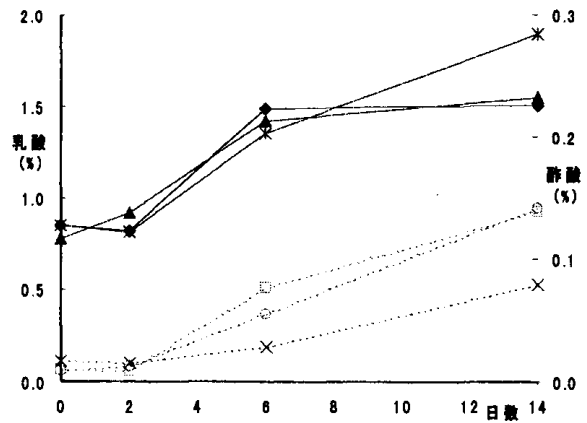


図3 発酵期間中の乳酸、酢酸量の推移 (18℃発酵、ブドウ糖0.3%)

●—Lp: 乳酸 ▲—Pc: 乳酸 *—Ls: 乳酸
 □---Lp: 酢酸 ×---Pc: 酢酸 ○---Ls: 酢酸

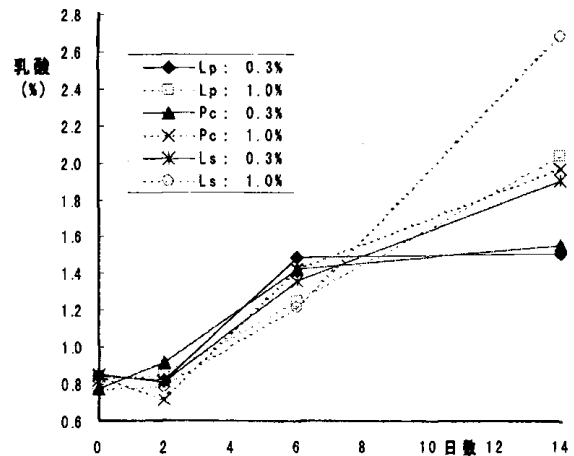


図4 発酵期間中の乳酸の推移 (18℃発酵)

文 献

- 1) 武山進一, 荒川善行, 伊藤崇, 中井博康: 岩手工技セ研報, 2, 107(1995)
- 2) 武山進一, 荒川善行, 伊藤崇, 中井博康: 岩手工技セ研報, 3, 137(1996)
- 3) 加藤丈雄, 土井梅幸, 米山由紀子, 杉本勝之, 中村良: 日食工誌, 41, 108(1994)
- 4) 沼田正寛: 食肉の科学, 35, 171(1994)
- 5) Demeyer, D. I. and Verplaetse, A.: J. Sci. Food Agric., 36, 1345 (1985)
- 6) Demeyer, D. I. and Verplaetse, A. and Gistelincx, M.: Proc. 33th Int. Congress Meat Sci. Technol., p. 241, Helsinki(1987)