

水産ねり製品の変敗に関する研究 III.

誌名	日本水産學會誌
ISSN	00215392
著者名	森,一雄 鍋谷,修 平野,とも子
発行元	日本水産學會
巻/号	40巻9号
掲載ページ	p. 959-962
発行年月	1974年9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



水産ねり製品の変敗に関する研究—III

Pseudomonas 属細菌によるかまぼこの褐変について (1)*¹

森 一雄・鍋谷 修・平野とも子

(1974年6月12日受理)

Studies on the Spoilage of Fish Jelly Products—III

Browning of Kamaboko by *Pseudomonas* sp. (1)Kazuo MORI*², Osamu NABETANI*², and Tomoko HIRANO*²

The browning caused by bacteria of "Kamaboko" was investigated microbiologically.

The isolated bacterium which was confirmed as cause of the browning was identified as *Pseudomonas* sp. This bacterium differed in many properties from the other bacteria which have been reported to cause the browning (*Achromobacter brunificans* and *Serratia marcescens* described by OGAWA *et al.* and FUJITA *et al.*).

It was confirmed that the isolated *Pseudomonas* sp. caused the browning of kamaboko containing either glucose or sucrose within one or two days of incubation.

It was found that glucose or sucrose was responsible for the browning of kamaboko.

水産ねり製品の軟化型変敗については、既に前報^{1,2)}において報告した。さらに市販かまぼこの変敗型式について検索中、梅雨期、ならびに高温、多湿の時候になると、しばしば各種のかまぼこやちくわにおいて黒褐色に激しく褐変する現象が認められた。この変敗型式は室温で放置すると、製造後わずか2-3日で製品の表面全体が褐変し、やがて速やかに内部へと拡大する特異的なものであり、冷蔵庫保存中にすら、その発生が認められた例もある。

この褐変については、既に小川ら³⁾と藤田ら⁴⁾により、それぞれ *Achromobacter brunificans*, および *Serratia marcescens* に起因する例が報告されているが、今回、著者らは上記の2種の菌の場合とはやや異なる褐変を見出し、それが *Pseudomonas* 属の細菌によつてひき起こされることを認めた。今回は本菌の分類学的諸性状、およびかまぼこでの再現実験を *Achromobacter brunificans* との比較において行い、さらに褐変に関与する物質について若干の検討を加えたのでその結果を報告する。

実 験 方 法

原因菌の分離と同定 褐変したかまぼこの表面を覆う1mm程度の無色透明、ゼリー状の粘性物質を採集、標準寒天培地上に画線培養し、孤立したコロニーを分離すると共に、一方ではこの粘性物質を滅菌食塩水にて均一な懸濁液とした後、前報¹⁾に準じ、細菌を純粋分離した。これらの分離菌株を BERGEY'S Manual⁵⁾, および Identification Methods for Microbiologists⁶⁾ により同定した。

かまぼこ試料の作成 褐変に関与する物質を検討するため、新鮮なにべの肉を数回、水洗して可溶性の糖類と蛋白質類とを除去した後、3%の食塩と20%の水とを加えただけの処方では、他は前報¹⁾に準じて供試かまぼこを試作した。

*1 本研究は昭和49年4月3日日本水産学会春季大会(東京)において発表した。

*2 日本新薬(株)食品技術研究所 (Nippon Shinyaku Co., Ltd., Food Research Institute, Nishioji-dori, Minami-ku, Kyoto).

かまぼこでの褐変再現 供試かまぼこを無菌的に厚さ 1 cm 程度に輪切りにした後、本分離菌、ならびに既報の褐変原因菌の 1 種である *Achromobacter brunificans* の希釈懸濁液 (約 $1.0 \times 10^6/ml$) を 1 白金耳ずつ滴下するようにして接種した。これを無菌のシャーレに入れ、 $30^\circ C$ の恒温器中でその褐変度を経時的に観察した。

結果と考察

分離菌株の菌学的性質 褐変かまぼこの表面を覆っていた粘性物質は、完全に同一の性状を示す単一の菌種で構成されていた。このことより本菌がかまぼこの褐変原因菌であることは容易に推定できた。そこで本菌を同定するため、その菌学的性質について検討した。

1. 形態的性質, 培養的性質, および増殖条件 本菌は運動性を有し, 光学顕微鏡, あるいは電子顕微鏡での観察より単極毛を有していた。これらの形態的性質と共に, 各種培地における培養的性質と増殖条件についての検討結果をまとめて Table 1 に示した。

2. 生理的性質 各種試験に対する結果を Table 2 に示した。

以上の諸結果を要約すると, 本菌は好気性の短桿菌で, グラム陰性, 単極毛を有し, $37^\circ C$ では増殖できず, HUGH & LEIFSON 培地でグルコースを醗酵せずに酸化的に資化し, KING 培地で螢光色素やその他の色素を産生せず, エタノールを酢酸に酸化せず, ゼラチンを液化しないが, ミルク培地を酸で凝固させ, KOVACS のオキシダーゼ反応は陽性で, 窒素固定能がなく, セルロースやフェノール, クレゾール, およびナフタリンを分解できなかつた。これらの諸性質より, 本菌は Identification Methods for Microbiologists では, *Pseudomonas fragi* の性質と一致した。しかし, BERGEY'S Manual の *Pseudomonas fragi* の記載とは, ゼラ

Table 1. Morphological and cultural characters, and condition for growth of the isolate

A. Morphological characters.	
1.	Gram reaction: Negative.
2.	Shape, size and arrangement: Short rods, 0.5 to 0.8 by 1.0 to 1.5 microns, with rounded ends, occurring singly and in pairs.
3.	Motility: Motile with a single polar flagellum of short wave length.
4.	Presence of endospores: None.
B. Cultural characters.	
1.	Agar colonies: Circular, flat, smooth, entire, translucent, offwhite, 2 to 3 mm in diameter.
2.	Agar slant: Growth thin to moderate, smooth, filiform, translucent, glistening.
3.	Broth: Moderate turbidity with a slight sediment and no pellicle.
4.	Potato: Growth thick, viscous, spreading, glistening, offwhite to brownish.
5.	Gelatin stab: Moderate offwhite surface growth. No growth along stab. No liquefaction.
6.	King's medium A: No blue-green pigment produced.
7.	King's medium B: No fluorescent pigment produced.
C. Condition for growth.	
1.	Oxygen requirement: Aerobic, no growth in glucose broth under anaerobic conditions.
2.	Optimum temperature: $25^\circ C$ – $33^\circ C$, no growth at $37^\circ C$.
3.	Optimum pH: 5.3–6.2.
4.	Azotobacter agar (glucose) ⁷⁾ : No growth.
5.	Rhizobium medium ⁷⁾ : Abundant growth.
6.	Sugar containing medium: Better growth than sugarless medium.
7.	Ammonium salts as nitrogen sources: Utilized. Growth is better when added 0.02% of yeast extract.

チンの液化能, およびショ糖やガラクトースなどの糖類の資化性で矛盾しており, その他のいずれの種とも BERGEY'S Manual の検索表では該当しなかつた。そこで本菌は *Pseudomonas fragi* の近縁種, あるいはその変種と考えられるが, 一応 *Pseudomonas* 属に属するものとした。このように新たな褐変原因菌が見出ださ

Table 2. Physiological characters⁸⁾ of the isolate

A. Reactions involving protein, amino acid, and other nitrogen compounds, including tests for proteolytic activity.					
1. Hydrolysis of gelatin:					—*
2. Hydrolysis of casein:					—
3. Production of ammonia from peptone:					±
from arginine:					—
from urea:					—
4. Production of indole from tryptophan:					—
5. Production of hydrogen sulphide:					—
6. Reduction of nitrate:					—
7. Action on BCP milk: peptonization:					—
sweet clot:					—
B. Reactions involving carbohydrates and other carbon compounds, including tests for saccharolytic activity.					
1. Production of gas from glucose:					—
2. Production of acid from carbohydrates:					
Xylose	+	Sucrose	+	Mannitol	+
Arabinose	+	Lactose	+	Inositol	—
Ribose	+	Cellobiose	+	Sorbitol	—
Glucose	+	Melibiose	+	Glycerol	+
Mannose	+	Maltose	±	Salicin	+
Galactose	+	Trehalose	—		
Fructose	+	Raffinose	+		
Sorbosc	—	Inulin	+		
Rhamnose	+	Starch	—		
3. Anaerobic production of acid from glucose in Hugh and Leifson's medium:					—
4. Hydrolysis of starch:					—
5. Production of levan from sucrose:					+
6. Methyl red test:					+
7. Voges-Proskauer test:					—
8. Utilization of organic acids as the sole source of carbon:					
Sodium citrate	+	Sodium succinate	+		
Sodium fumarate	+	Sodium acetate	+		
9. Formation of acetic acid from ethanol:					—
10. Action on BCP milk: acid clot:					+
11. Action on cellulose:					—
12. Utilization of hydrocarbons:					
Naphthalene	—	Cresol	—	Phenol	—
C. Miscellaneous tests.					
1. Catalase test:					+
2. Kovacs's oxidase test:					+
3. Reduction of methylene blue:					+
4. Reduction of Fehling's solution in the cold:					+
5. Reduction of Nessler's reagent:					+

* Key to symbols used was as follows.

—...Negative, ±...Slightly positive, +...Positive.

れたことは、今後さらに異なつた種類の褐変原因菌が発見される可能性のあることを示唆している。

分離菌株による褐変の再現、および褐変に関与するかまぼこの成分 冷凍スケトウすり身を原料とした通常のかまぼこに本菌を植菌すると、1日目で植菌部分を中心として、表面部に褐変が認められたことより、本菌が褐変原因菌であることは容易に判定できた。そこで、本菌によるかまぼこ褐変の防止方法を見出すために、褐変に関与するかまぼこの成分について検討した。

Table 3. Effect of some additives on browning of kamaboko by *Pseudomonas* sp. isolated and *Achromobacter brunificans* AJ-3230

Additives	Days	<i>Pseudomonas</i> sp. isolated			<i>Achromobacter brunificans</i>		
		1	2	5	1	2	5
Control		—*	—	—	—	—	—
Sorbitol		—	—	—	—	—	—
Glucose		—	+	++	—	+	++
Sucrose		+	++	+++	—	—	—

* Key to symbols used was as follows.

—...Unchanged, +...Slightly browned, ++...Moderately browned, +++...Heavily browned.

供試検体としては、澱粉、ショ糖、および調味料を含有しないものを対照とし、これにおのおのソルビトール、ショ糖、およびグルコースを5%ずつ添加した計4種類のかまぼこを用いた。Table 3に示したごとく、本菌では2日目にショ糖とグルコース添加検体で褐変が見られたが、比較に用いた *Achromobacter brunificans* では、5日目でもグルコース添加検体以外では褐変が見られなかつた。この結果より、本菌によるかまぼこの褐変には、添加物として用いるショ糖、およびグルコースの両成分がかまぼこの褐変と密接に関連していることが判明した。

要 約

1. 市販のかまぼこの強く褐変した部分より原因菌を分離し、同定した結果、従来褐変原因菌としては報告されていない *Pseudomonas* 属の細菌であることが判明した。
2. 本菌によるかまぼこの褐変は、かまぼこに添加されるショ糖、およびグルコースの2成分と密接に関連することが見出された。

本研究にあたり、*Achromobacter brunificans* AJ-3230を御供与下さいました味の素(株)中央研究所に厚く感謝致します。

文 献

- 1) 森 一雄・鍋谷 修・丸尾重昭・平野とも子: 本誌, **39**, 1063-1069 (1973).
- 2) 森 一雄・鍋谷 修・丸尾重昭・平野とも子: 同誌, **39**, 1071-1076 (1973).
- 3) 小川博望・小名木正躬・福島 清: 食衛誌, **11**, 352-355 (1970).
- 4) 藤田八束・金山竜男: 本誌, **39**, 229-235 (1973).
- 5) R. S. BREED, E. G. D. MURRAY and N. R. SMITH: "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology", 7th ed., Williams and Wilkins Company, Baltimore, 1957, pp. 89-152.
- 6) B. M. GIBBS and F. A. SKINNER: "Identification Methods for Microbiologists", Part A, Academic Press, New York, 1966, pp. 1-7.
- 7) F. A. WEISS and M. J. PELCZAR: "Manual of Microbiological Methods", McGraw-Hill Book Company, New York, 1957, pp. 108-115.
- 8) W. F. HARRIGAN and M. E. MCCANCE: "Laboratory Methods in Microbiology", Academic Press, New York, 1966, pp. 51-68.