

Press Ham の腐敗菌について*

中 野 道 紀

Some Experiments on the Putrefactive Bacteria of Press Ham

By

Michinori NAKANO

The results on the investigation of press ham are summarized as follows:

1. Main putrefactive bacteria of press ham are *Cl. sporogenes*, *B. megatherium* and *B. subtilis* etc.
2. These bacteria originally found in fish flesh still survive in spite of having been heated.
3. It takes 350 minutes and 8 minutes for some bacteria to be sterilized when they are heated in furacin solution (3×10^{-5} g/ml) and DHA solution (1×10^{-3} g/ml), at 80°C and at 100°C, respectively.

A社に於いて試作された Press Ham は僅々10日で腐敗した。この為その原料豚脂を 2×10^{-4} フラスキンで1分間洗滌する操作を加えたがこの場合でも保蔵期間を10日延長し得たに過ぎなかつた。この原因の究明を目的として次の実験を行つた。

この研究にあたり御指導を仰いだ故小谷和夫教授に感謝する。

実験試料：A社より提供を受けた Press Ham の正常品及腐敗品を使用した。この腐敗品はライファン内にガスが発生していづれも少々膨脹していた。又内部に水滴が附着して pH 5.4 程度で色、臭、味等も明らかに変化していた。これに対し正常品は pH 6.2 程度で変化は見られなかつた。

これらの使用原料、混合割合及添加した防腐剤は次の様である。

カジキ固形3，鯨肉固形3，豚脂固形2，ココワカジキ挽肉2，澱粉は全体の6%を使い、防腐剤としてデハイドロ酢酸 (DHA) 1×10^{-3} 及フラスキン 3×10^{-5} (n. f. として) を併用し、80°C 60分の殺菌加熱を行つたものである。

1 腐敗 Ham と正常 Ham の細菌について

実験方法及結果

腐敗品及正常品の1g宛を夫々無菌的にとり、10mlの生理的食塩水に入れ、磨碎し充分振盪した後、この1mlを普通寒天にて嫌気性及好気性培養した。この結果は第1表及第2表の如くである。

*水産講習所研究業績 第232号，1957年7月25日 受理

Table 1. Bacteria number of press ham.

Each press ham wt. 1g.

Culture method	Aerobic	Anaerobic
Press ham		
Flat	3×10^2 <i>Bacillus</i> † <i>micrococcus</i> +	0
Swell	7.2×10^6 <i>Bacillus</i> ‡	3×10^6

上表の如く正常品は好気性の桿菌及球菌 3×10^2 を含むのに対し腐敗品は菌数 7.2×10^6 でこの大半は嫌気性菌でこれらの好気性及嫌気性菌が Press Ham 腐敗の主働腐敗菌と思われる。

2 不良 Press Ham の組成別による腐敗菌の分離

Press Ham の腐敗は一見空中

Table 2. Colonies form on agar source of flat press ham.

Colonies Nc.	Colour	Diameter (mm)	Shape	Elevation	Form	Number
1	white	10	circular	umbonate	short rods	50
2	white	5	circular	Flat	long rods	2
3	yellow	8	circular	Flat	chain rods	2
4	white	20	Irregular	Flat	rods	1

の雑菌が無秩序に関係すると思はれるが、加工処理に防腐剤を使用し、加熱殺菌するのでその腐敗菌は各原料により大体決ると考えられる。従つてそのいづれの部分が最も敗腐し易いか、不良 Press Ham の構成部分別に菌分離を試み、その分離菌について培養的性質をしらべた。

実験方法及結果

不良 Press Ham について製品の固形部分である鯨肉、魚肉、豚脂の部分及製品の表面、中心、鯨肉とその周囲との接触部分、豚脂とその周囲との接触部分、魚肉とその周囲との接触部分、表面下 1 cm の部分の 9ヶ所より夫々 0.1g をとり 3×10^{-5} フラスキン・ブイオン (pH 7.2) 10ml に入れ 37°C 24時間振盪培養した後、この液 1ml を 100倍に稀釈して平板培養した。生じた Colony についてはその培養的性質をしらべた。結果は第3表及び第4表の如くである。

Table 3. Comparison of growth in the nutrient broth steeped each component of press ham swelled by the shake culture.

37°C 24hrs. shake cultured.

No.	Component and part	Clouding		Bacteria		Number of colonies
		1day	2days	Form	Motil	
1	Pig fat	--	+ -	small rods	† -	a few
2	Whale meat	-	+ -	large rods	+	many 0.01mm
3	Fish meat	-	+	large rods	-	many 0.5~1mm
4	Surface	+	†	short rods	†	many 0.5mm
5	Center	-	†	chain rods small rods	† -	many 0.01mm
6	1cm from surface	-	+	long rods	‡	many 0.01mm
7	Pig fat contact	-	-	chain rods	†	many 0.5~1mm
8	Whale meat contact	-	+ -	many small rods a little rods	† -	0.1mm 50 1mm 10
9	Fish meat contact	+ -	†	large rods	+ -	many 0.01mm

Table 4. Cultural characteristics of bacteria.
Source : Press ham swelled.

Strains	Agar stroke temperature 37°C, age 24hrs.					
	Growth	Form of growth	Lustre	Chromogenesis	Odor	Consistency
1	Moderate	Beaded	Glistening	—	Decided	Moist
2	Moderate	Echinulate	Dull	—	Decided	Butyrous
3	Moderate	Beaded	Glistening	—	Resembling	Moist
4	Moderate	Beaded	Glistening	—	Resembling	Moist
5	Scanty	Spreading	Glistening	—	Absent	Moist
6	Moderate	Spreading	Dull	—	Absent	Membranous
7	Moderate	Beaded	Glistening	—	Absent	Moist
8	Scanty	Spreading	Glistening	—	Absent	Moist
9	Moderate	Beaded	Glistening	—	Absent	Moist

Medium	Nutrient broth temperature 37°C, age 24hrs.				
	Condensed water		Surface growth	Clouding	Odor
Browned	Gray sediment	+	None	Slight	Decided
Unchanged	Membranous surface sediment	—	Membranous	Slight	Decided
Unchanged	Gray sediment	+	None	Slight	Resembling
Browned	Gray sediment	+	None	Moderate	Resembling
Unchanged	Gray sediment	+	None	Moderate	Absent
Unchanged	Flocculent surface sediment	—	Flocculent	Slight	Absent
Unchanged	Membranous surface sediment	+ —	Membranous	None	Absent
Unchanged	Sediment	—	None	Slight	Absent
Unchanged	Membranous surface sediment	—	Membranous	Moderate	Absent

Amount of sediment	Peptone water temp. 37°C, age 24hrs.			Lactose nutrient broth		
	Surface growth	Clouding	Amount of sediment	Surface growth	Clouding	Amount of sediment
Abundant	None	None	Scanty	None	None	Scanty
Scanty	Flocculent	None	Abundant	Flocculent	None	Scanty
Abundant	None	None	Scanty	None	None	Scanty
Abundant	None	None	Scanty	None	None	Scanty
Abundant	None	None	Scanty	None	None	Scanty
None	Flocculent	None	Scanty	Flocculent	None	Scanty
Abundant	Flocculent	None	Scanty	None	None	Scanty
None	None	None	None	None	None	Scanty
None	None	None	Scanty	Membranous	None	Scanty

Temp. 37°C, age 24hrs.		Litmus actose nutrient broth temp. 37°C, age 24hrs.			
Das	Acid	Surface growth	Clouding	Amount of sediment	Acid
Not produced	Produced	None	None	Scanty	Produced
Not produced	Not produced	Flocculent	None	Scanty	Not produced
Not produced	Produced	None	None	Abundant	Produced
Not produced	Produced	None	None	Abundant	Produced
Not produced	Not produced	None	None	Scanty	Not produced
Not produced	Not produced	Flocculent	None	Scanty	Not produced
Not produced	Not produced	None	None	Abundant	Not produced
Not produced	Not produced	None	None	Scanty	Not produced
Not produced	Not produced	Membranous	None	Scanty	Not produced

Na-Citrate media temp. 37°C, age 24hrs.			Morphological		
Surface growth	Clouding	Amount of sediment	Vegetative cells		
			Form	Gram Stain	Flagella
None	None	Scanty	Rods	Positive	Peritrichic
None	Scanty	Scanty	Rods	Positive	Absent
None	None	Scanty	Rods	Positive	—
None	None	Scanty	Rods	Positive	Absent
None	None	Scanty	Rods	Negative	—
Flocculent	None	Scanty	Rods	Positive	Peritrichic
None	None	Scanty	Rods	Positive	Peritrichic
None	None	None	Rods	Negative	Peritrichic
None	Scanty	Scanty	Rods	Positive	Peritrichic

Physiological				
Sporangia	Endospores	Methyl red reaction	Acetyl methyl carbinol	Indole
Drumsticks	Terminal	Positive	Negative	Negative
Elliptical	Subterminal	Negative	Negative	Negative
Spindled	Central	Positive	Negative	Negative
Elliptical	Central to subterminal	Positive	Negative	Negative
Elliptical	Terminal	Positive	Negative	Negative
Elliptical	Terminal to subterminal	Positive	Negative	Negative
Elliptical	Central	Negative	Positive	Negative
Elliptical	—	Positive	Negative	Negative
Elliptical	Central	Positive	Negative	Negative

これらの菌は Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 6 ed. により検索し *Cl. Sprogenes*, *B. Megatherium*, *B. subtilis* 等と思われる。これらの菌は木俣等^{4) 6)}によりカマボコより、井野³⁾によりソーセージより分離されている。これらの嫌気性及好気性菌が Press Ham の主働腐敗菌と思われる。

3 耐熱性実験

実験 2. によつて得た細菌の耐熱性を検討して Press Ham の殺菌温度及時間を見出す為次の実験を行った。

実験方法及結果

前記 9 株の中、耐熱性予備実験に於いて耐熱性の最も強いと思われた No. 9 株について、その滅菌水懸濁液 1 ml を DHA 10^{-3} , DHA 10^{-3} + フラスキン 3×10^{-5} , フラスキン 3×10^{-5} 濃度 (g/ml) のブイヨン (pH 7.0) 9 ml に入れ 80°C , 98°C , 100°C で加熱后直ちに水冷してその 1 ml を平板培養し次の結果を得た。

最初の接種菌量によりその死滅所要時間は異なる (坂口 1951)¹⁾ 接種量 70/ml でこれを 80°C で加熱した場合、対照は 70 分を要した。これに対しフラスキンのもの及び DHA のものは 50 分で死滅し、これを併用したものは 60 分を要した。最初の菌量が 1.2×10^3 /ml であつた場合、いずれの場合も 150 分までは徐々に減少したが対照はこれ以上長時間加熱してもその菌数は減少せず 150 分の加熱で生菌が徐々に死滅し、残存した芽胞は 80°C の加熱では死滅せず従つてこれ以上菌数は減少しないものと思われるが、加熱中の pH 等の測定を行つていないので尙検討の余地があるようである。

最初の菌量が 1.2×10^3 /ml で、これを 98°C にて殺菌加熱した時、対照は 14 分フラスキン, DHA, 両者併用のものはいずれも 12 分で死滅しこの場合は防腐剤による効果は顕著な差は認められない、これを 100°C にて殺菌加熱した場合、対照は 9 分他はいずれも 8 分で防腐剤の効果は顕著でない。

これらの死滅曲線も一般の芽胞死滅曲線に一致する。

摘 要

1) ライフアンケートした Press Ham よりその腐敗菌を分離した。

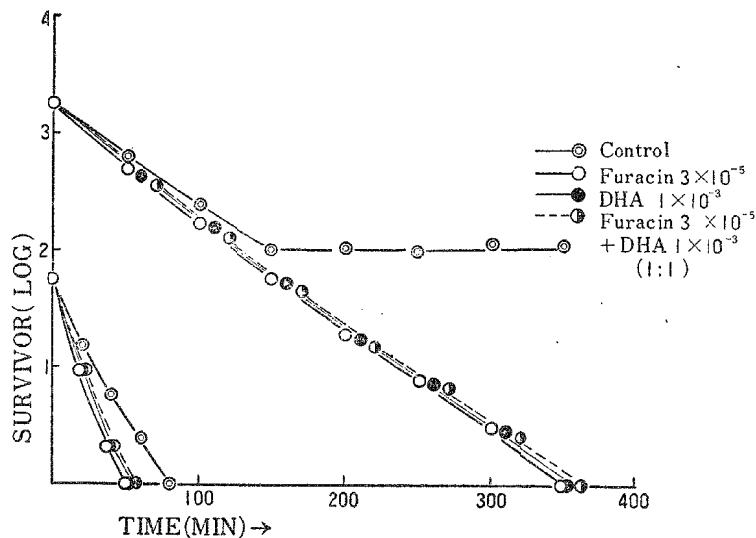


Fig. 1. Comparison of survivor after heating in the furacin solution and DHA solution in the case of different concentration of bacteria heated at 80°C .

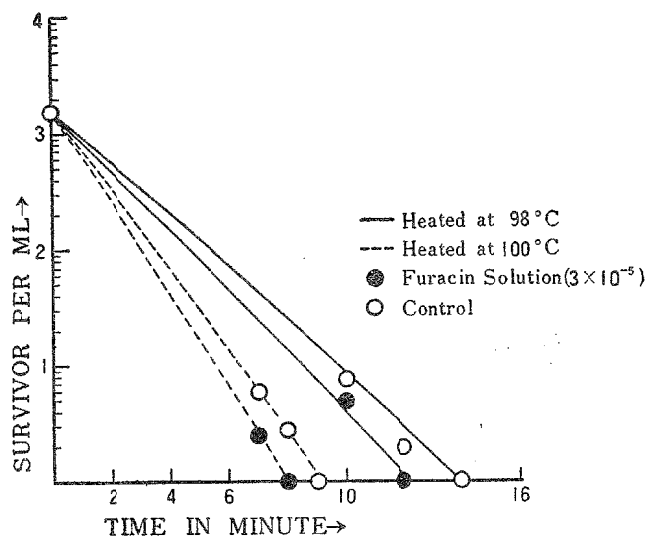


Fig. 2. Comparison of survivor heated in the furacin solution on the different temperature.

2) その主働腐敗菌は *Cl. sporogenes*, *B. subtilis*, *B. megatherium* 等の嫌気性菌及好気性菌と思われる。

3) これらの細菌は初め原料魚肉に含まれて加熱に耐えていたもので、その中の一株について耐熱実験した結果、菌濃度が $1.2 \times 10^8/\text{ml}$ でフラスキン 3×10^{-5} 又は DHA 10^{-3} の溶液中で加熱した場合、殺菌温度が 80°C の時は350分を要したが、 100°C では僅か8分で死滅した。

文 献

- 1) 坂口謹一郎・天羽幹男：1951. 農化, **25**, (2) 104.
- 2) 天羽 幹男：1952. 農化, **26**, (7) 339.
- 3) 河端俊治・高瀬明・天野慶之：1955. 水産, **20**, (9) 835.
- 4) 後藤幸男・木俣正夫：1933. 水産, **2**, (2) 57.
- 5) 井野 米次：1954. 腐研報, **7**, 31,
- 6) 木俣正夫・曾々木淑子：1956. 水産, **22**, (4) 269.
- 7) BREED S. R. 1948. *Bergey's manual of Determinative Bacteriology*. 6th ed The Williams and Wilkins Co.
- 8) CONN, H. J. 1951. *Routine Test for Descriptive Chart Morphological and Biochemical*. 12th ed.
- 9) OGINSKY and UMBREIT. 1955. *An Introduction to Bacterial Physiology*.
- 10) POTTER A. L. 1954. *J. Agr. Food. Chem.*, **2**, (5) 298.