包装かまぼこ変敗品から分離された細菌

(昭和 44 年 12 月 10 日受理)

茂 木 幸 夫* 松 原 瑞 穂*

Studies on the Bacteria Isolated from the Film Packaged Fish-Paste Product "Kamaboko"

Sachio MOTEGI and Mizuho MATSUBARA

(Plastics Development and Service Laboratory, Asahi Dow Limited:
1-3-1, Yakō-cho, Kawasaki-shi, Kanagawa-ken)

Incubation test for 62 samples of film-packaged fish paste product "Kamaboko" was performed both at 30°C and 37°C for 30 days.

From the results of the test it was shown that the patterns of spoilage were divided in to 3 types: (1) deterioration with weak gas formation, (2) softening of tissue and (3) partial discoloration.

From the spoiled samples, we isolated 35 strains of bacteria. They were classified into 9 species, i.e. *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus circulans*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus polymyxa*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus brevis*, *Bacillus laterosporus* and *Bacillus firmus*.

The spore of these organisms survived heat resistance test at 95°C for 90 minutes, therefore it was shown to be impossible to sterilize the products through routine heat processing.

(Received December 10, 1969)

包装かまぼこ形状が類似している魚肉ソーセージの変敗に関する研究は従来多くみられるが^{(1)~(10)}, 原料や製法が異なるのでその結果をもって包装かまぼこの変敗を論ずることは困難である。

今般、筆者らは主として西日本地方で生産された包装かまぼこの変敗品について細菌学的見地から検討する機会が得られたのでここにその結果を報告する。

1. 実験方法

(1) 試料

試料は 1966 年 1 月~1967 年 12 月の 2 年間に西日本地方の包装かまぼこメーカー 14 社で製造された 62 製品で、いずれも塩化ビニリデン製チューブに充てんされ、ワイヤーにて両端が密封されている。製造後 2~7 日以内に供試した。試料の詳細は Table 1 の通りである。

(2) 恒温試験

各試料を 15~20 個ずつ 30° または 37° の恒温器にいれ、連日観察し、外観に異常を認めたものは直ちに細菌試験に供した。

(3) 細菌の分離

外観に異常が認められた試料はケーシング表面を 70% アルコールで十分拭った後、無菌的に開袋し、変敗部分より 5~10 g を採取、一定量の滅菌生理食塩水を加え、ワーリングブレンダーにて 3 分間摩砕後、細菌分離用原液とし、これを 0.1% グルコース加平板培地および流動パラフィンで重層した液状チオグリコール酸塩培地（いずれも pH 7.0 に調整）に接種し、30° および 37° にて 48 時間培養後、菌数を算定し、ついで成書の方法⁽¹¹⁾に従って細菌分離を行なった。

(4) 分離菌の同定

Bergey's Manual⁽¹²⁾, Smith の方法⁽¹³⁾および東の方法⁽¹⁴⁾にて実施した。

(5) pH 測定

細菌試験に供した試料から採取した内容物を蒸留水で 2 倍に希釈し、ワーリングブレンダーにて 2 分間摩砕したものをガラス電極 pH メーターにて測定した。

(6) 分離菌芽胞の耐熱性試験

分離菌を普通寒天斜面に培養し芽胞を形成させた後、菌体をかきとり滅菌蒸留水中に懸濁、十分に振とうし菌

* 旭ダウ(株)プラスチック加工研究所: 神奈川県川崎市夜光 1-3-1

Table 1. Detail of the Samples Used for Incubation Test

Locality of products	Material fish	Method of cooking	Cooking condition	
			Temperature (°C)	Time (min.)
Senzaki	True-lizard fish, white croaker	Steaming	90	40
Senzaki	True-lizard fish, white croaker	Boiling	90	40
Gotsu	Horse-mackerel	Steaming	100	30
Hamada	Horse-mackerel	Steaming	90	30
Hamada	Horse-mackerel	Steaming	100	35
Hamada	Alaskan pollack	Steaming	85	30
Shimonoseki	Alaskan pollack	Boiling	90	40
Shimonoseki	Alaskan pollack	Boiling	85	40
Onoda	Flat-fish	Boiling	90	40
Kannonji	White croaker	Steaming	90	60
Kanazawa	White croaker	Steaming	90	35
Osaka	Alaskan pollack	Boiling	90	20
Osaka	Alaskan pollack	Boiling	90	40
Nagoya	Alaskan pollack	Boiling	85	50

塊をなくしてから口紙で無菌的にろ過後, 80° で30分間加熱, 芽胞懸濁液とした. これを 10⁶/ml の濃度となるようにグルコースブイヨン (pH 7.0) に接種, 95±0.5° の湯せん中で30~60分間加熱急冷後, そのまま適温で14日間培養, 発育の有無からその生死を判定した.

(7) 変敗再現試験

前記芽胞懸濁液を充てん用すり身 (スケソウタラ冷凍

すり身に食塩 2.5%, 砂糖 3.0%, 無菌デンプン 6.0%, ソルビン酸ナトリウム 0.2%, フリルフラマイド 2.5 ppm を添加して調製) の中に 10⁶/g となるように接種し, 塩化ビニリデンフィルムに充てん, 密封後 90° で 40 分間加熱殺菌したものを 30° および 37° の恒温器に 10~30 日間放置し, 変敗状況を観察した.

Table 2. Spoilage Types of Film-packaged "Kamaboko" and Bacteria Isolated from Them

Type of spoilage	Storage		Number of viable bacteria		pH	Number of isolated strains	Species name and number of strains
	Temperature(°C)	Period (days)	Aerobes	Anaerobes			
Deterioration with weak gas formation	37	2~5	10 ⁵ ~10 ⁷ /g	<10 ³ /g	6.4~7.0	18	<i>Bacillus polymyxa</i>3
	30	10~15					<i>Bacillus licheniformis</i> ..5
							<i>Bacillus coagulans</i>4
							<i>Bacillus subtilis</i>2
							<i>Bacillus firmus</i>2
<i>Bacillus brevis</i>2							
Softening of tissue	30	10~15	10 ⁷ ~10 ⁸ /g	<10 ³ /g	6.4~6.8	9	<i>Bacillus licheniformis</i> ..4
							<i>Bacillus subtilis</i>2
							<i>Bacillus circulans</i>2
							<i>Bacillus laterosporus</i>1
Partial discoloration	30	15~30	10 ⁸ /g	<10 ³ /g	6.7~6.8	8	<i>Bacillus licheniformis</i> ..3
							<i>Bacillus sphaericus</i>3
							<i>Bacillus subtilis</i>2

2. 実験結果および考察

(1) 変敗の出現状況および細菌試験

実験結果の概況は Table 2 に示すとおりであって、変敗形式を大別すると気泡発生型、軟化型、およびはん紋型となった。

最も多く認められたのは気泡発生型変敗でこれは小気泡が内容物とケーシングの間に存在し内容物から遊離した水分がその間にたまったり、あるいは内容物表面に部分的に噴火口状突起を生ずるもので、37° 保存では 2~5 日、30° 保存で 10~15 日の間に出現した。その時の生菌数は $10^5 \sim 10^8/g$ で 18 株が分離された。

軟化型変敗は外部から押した場合、かまぼこ特有の弾力性がなく崩壊するもので、30° 保存で 10~15 日の間に出現している。こうした試料の生菌数は $10^6 \sim 10^7/g$ で 9 株が分離された。

はん紋型変敗は内容物表面が部分的に直径 5~10 mm 程度に円形か変するもので、30° 保存で 15~30 日の間にみとめられた。生菌数は $10^8/g$ でこれらからは 8 株が分離された。

なお魚肉ソーセージにみられるはん点型変敗^{9)~518)} は本試験では認められなかった。

そのほかケーシングと内容物が完全に離れその間に多量のガスがたまる膨張型変敗品もあったが、それらは明らかに二次汚染細菌由来であることが確認されたので除外した。

(2) 分離菌の性状

変敗品から分離された細菌 35 株はいずれも 95°, 60 分以上の耐熱性を有する芽胞を形成する。同定の結果、9 種にまとめられた。

気泡型変敗品からは *Bacillus coagulans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus firmus*, *Bacillus brevis*, *Bacillus polymyxa* が検出された。このうち *Bacillus firmus*, *Bacillus licheniformis* は魚肉ソーセージにおいては肉色固定のために使用する硝酸塩を分解し、ガスを発生する結果、製品に気泡を生ずることが報告されているが^{7)~9)} 包装かまぼこには硝酸塩は使用されていないのでそれらを原因菌と考えることは妥当でない。むしろこの場合は炭水化物を分解し、ガスを発生する *Bacillus polymyxa* が原因菌であると推定される。*Bacillus subtilis* と *Bacillus licheniformis* は全変敗品から検出されているが、包装かまぼこの殺菌条件と耐熱性の点から考えるとこれらの細菌は包装かまぼこ中にはかなり存在するものと思われる。*Bacillus brevis* はいわゆる随伴菌と解釈される。

軟化型変敗品からは *Bacillus circulans*, *Bacillus laterosporus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis* が検出されている。このうち *Bacillus circulans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis* はデンプン加水

分解能があるので、軟化原因菌としての条件を備えている。*Bacillus laterosporus* は無糖かまぼこの変敗原因菌の一つとして報告されているが¹⁵⁾、本試験ではその役割は解明できなかった。

はん紋型変敗品から分離された *Bacillus sphaericus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis* はいずれもポテト培地をかつ変するし、またこれらを接種した包装かまぼこにおいてははん紋形成が認められたので、一応この変敗の原因菌とした。しかし他の菌株と共存した場合の挙動はなお検討の余地があるものと考察する。

3. 要 約

(1) 包装かまぼこ 62 検体を 30° および 37° の恒温試験に供しその変敗状況を追求したところ、気泡発生型変敗、軟化型変敗、はん紋型変敗の 3 型に大別できた。

(2) 変敗品からは 35 株の *Bacillus* が検出されたが 9 種に同定された。そのうち *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* はすべてのものに存在していた。

(3) 気泡発生型変敗品からは *Bacillus polymyxa* が、軟化型変敗品からは *Bacillus circulans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis* が、またはん紋型変敗品からは *Bacillus sphaericus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis* が原因菌として検出された。

(4) 分離された細菌はいずれも現在、包装かまぼこで実施されている殺菌条件に耐えることが判明した。

文 献

- 1) 横関源延：東海区水研報，No. 35，29 (1962)。
- 2) 赤松幹夫：日水誌，25，545，549 (1959)。
- 3) 高田信男，ほか：醸酵工誌，41，19，26 (1963)。
- 4) 芝崎 勲，ほか：同上，41，31 (1963)。
- 5) 興津知明，ほか：日水誌，30，63 (1964)。
- 6) 元広輝重，ほか：魚肉ソーセージ，No. 96，9 (1963)。
- 7) 清水 潮，ほか：日水誌，30，189 (1964)。
- 8) 横関源延，ほか：同上，30，1008，1015 (1964)。
- 9) 山形 誠，ほか：同上，32，89 (1966)。
- 10) 谷口忠敬，ほか：長崎大水研報 No. 24，89 (1967)。
- 11) 伝染病研究所学会編：“細菌学実習提要”全訂改版 p. 88，丸善 (1958)。
- 12) R. S. Breed, et al.: “Bergey's Manual of Determinative Bacteriology”，7th ed., The Williams and Wilkins Co. (1957)。
- 13) N. R. Smith, et al.: “Aerobic Sporeforming Bacteria” Agr. Monograph No. 16, U.S. Dept. of Agr. (1952)。
- 14) 東 量三：ニュー・フード・インダストリー 4 (9)，67，4(10)，61 (1962)。
- 15) 木俣正夫：日水誌，16，562，566，568 (1951)。