冷蔵海産魚の腐敗細菌 (第1報)

鮮魚の腐敗した場合のマイクロフローラ

(昭和 47 年 6 月 12 日受理)

堀 江 進* 奥 積 昌 世* 木 村 正 幸*
赤 堀 正 光* 川 前 政 幸*

Studies on Psychrophilic Spoilage Bacteria of Chilled Sea Fish (I) Bacterial Flora in the Spoilage of Raw Fish

Susumu HORIE, Masayo OKUZUMI, Masayuki KIMURA,
Masamitsu AKAHORI and Masayuki KAWAMAE

(Tokyo University of Fisheries: Konan 4, Minato-ku, Tokyo)

The bacterial flora on the skin and in the muscle of spoiled raw fish stored at 0.5°C was investigated.

Enumeration and isolation of bacteria was conducted with smear plate method using 1% NaCl containing agar or 50% sea water agar medium. Ten samples of fresh sea fish were used in this experiment. One hundred and four strains were isolated from the skin of the fresh fish, and 150 and 148 strains were isolated from skin and muscle of the spoiled fish, respectively. Among the total isolates *Pseudomonas* group III/IV was predominant, and *Vibrio*, *Pseudomonas* II and I, or *Moraxella* constituted a small percentage of them. The isolates classified as the above-mentioned *Pseudomonas* III/IV were found to be divided clearly into the two groups on the basis of the difference in the salt requirement. The halophilic group was tentatively designated as *Pseudomonas* III/IV-H, while non-halophilic one *Pseudomonas* III/IV-NH. The majority of the *Moraxella* and the *Vibrio* strains also showed slightly halophilic property. On the contrary, all of the *Pseudomonas* I and II strains were nonhalophiles. About 90% of the isolates from the skin of fresh fish consisted of the *Pseudomonas* III/IV-H, III/IV-NH, *Vibrio* and *Moraxella*. After spoilage, the *Pseudomonas* III/IV-H, III/IV-NH and the *Vibrio* also dominated in the flora both on the skin and in the muscle, and percentage of the *Pseudomonas* II and I strains increased to some extent instead of decrease in the *Moraxella*. The spoilage ability at 5°C of the pure cultures was tested organoleptically using yellow-tail muscle. Several of the *Pseudomonas* III/IV-NH and III/IV-H strains and some of the *Vibrio* produced typical offensive spoilage odour, while the other group strains showed only some atypical odours.

(Received June 12, 1972)

海産魚を低温で腐敗させた場合における魚体のマイクロフローラに関しては欧米諸国で白身魚類についてかなり研究されている。Shewan ら¹⁾ はタラの氷蔵中のマイクロフローラの変化を観察し、漁獲直後では *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Coryneforms* および *Micrococcus* などの細菌が存在するが、15~20日後にはその中で *Pseudomonas-Achromobacter* 菌群が大部分を占

めるようになったことを認め、また *Pseudomonas* の腐敗活性が *Achromobacter* よりも高い点から、*Pseudomonas* が腐敗の主役を演ずるものと推論している。Shewan ら²⁾ はまた、海産魚などから分離したグラム陰性桿菌の性状を検討し、*Pseudomonas*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Achromobacter* および腸内細菌などの間の鑑別点を明確にし、*Pseudomonas* を I ~ IV 群に分けた。その後海産魚の腐敗細菌に関しては Lerke ら³⁾, Adams

* 東京水産大学：東京都港区港南4丁目

ら⁵⁾, Levin⁶⁾, Chai ら⁷⁾, Lee ら⁸⁾, Shaw ら⁹⁾, 清水¹⁰⁾, Herbert ら¹¹⁾ の報告がみられるが, 冷蔵魚の腐敗細菌として *Pseudomonas* がもっとも重要であるという点については異論はないようである。

一方, かつて Shewan らの *Achromobacter* と称したものは一般に非運動性の細菌であるが, Thornley¹²⁾ はこれらを *Acinetobacter* とすべきことを提案した。その後 Baumann ら¹³⁾¹⁴⁾ は *Moraxella* および *Acinetobacter* に関して分類学的に検討し, チトクロームオキシダーゼ陽性, ペニシリン3単位に感受性のものを *Moraxella* に, これと反対の性状を有するものを *Acinetobacter* とすることを提案した。最近では Shewan¹⁵⁾ も従来 *Achromobacter* としていた細菌の多くは Baumann らの *Moraxella* に属するものであることを認め, そして *Acinetobacter* に属するものはあまりみられないと述べている。

わが国では海産魚の低温腐敗におけるマイクロフローラについてはまだ十分の検討がなされていない。本研究では鮮魚を 0° 付近で腐敗させた場合の皮膚と筋肉に増殖した低温細菌の菌株について, 前述の Shewan らおよび Baumann らの分類に基づき, さらに塩分要求性なども利用して群別を試み, そのマイクロフローラを明らかにしたので報告する。

実験方法

供試海産魚: 供試魚として神奈川県逗子市小坪港で水揚げ直後のきわめて新鮮なものを4試料と, 本学付近の小売店で入手した6試料を用いた (Table 1)。

生菌数測定ならびに菌株分離用の培地: 生菌数測定ならびに菌株の分離用培地として, 1%食塩寒天平板培地 (ポリペプトン 5g, 牛肉エキス (極東) 2.5g, 酵母エキス (Difco) 2.5g, グルコース 1g, 食塩 10g, 寒天 15g, 蒸留水 1,000 ml, pH 7.0), または海水寒天平板培地 (上記培地における食塩 10g, 蒸留水 1,000 ml を後記の人工海水 500 ml, 蒸留水 500 ml に換えたもの) を用いた。試料 1~7 では 1% 食塩培地, 試料

8~10では海水培地を用いた。

人工海水: 特記しない限り Lyman and Freming¹⁶⁾ の人工海水を改変したもの (NaCl 23.5g, KCl 0.66g, Na₂SO₄ 3.9g, MgCl₂・6H₂O 10.6g, CaCl₂・2H₂O 1.5g, 蒸留水 1,000 ml, pH 7.6) を用いた。

生菌数測定: 皮膚は背部の 10 cm² を無菌的に切りとり, 希釈水 (リン酸緩衝生理食塩水) 100 ml 中にいれサーモミキサーで2分間振出してこれを原液とし, また筋肉は背部から 10g を無菌的に切りとり, 希釈水 190 ml 中にいれホモジナイザーで2分間細碎してこれを原液とし, それらの原液の各段階希釈液 0.1 ml を各3枚の培地表面に塗抹して, 試料 1~7 では 5° で11日間, 試料 8~10では 20° で6日間培養し発生集落数を算定して生菌数を測定した。

菌株の分離: 各試料の集落の算定を行なった中の1枚の平板から10~15個の集落を釣菌し, さらに同じ培地に画線培養し菌株を分離した。

揮発性塩基窒素 (TVB-N) およびトリメチルアミン窒素 (TMA-N) の測定: 食品衛生検査指針¹⁷⁾ の Conway の微量拡散法によった。

0.5% 食塩および 3% 食塩 ブイヨンにおける発育試験: 50% 海水 ブイヨン (ポリペプトン 5g, 肉エキス 3g, 人工海水 500 ml, 蒸留水 500 ml, pH 7.0) の 25°, 20時間培養菌を 0.5% および 3% の食塩を添加した2種類のブイヨン (基本組成はポリペプトン 5g, 肉エキス 3g, 蒸留水 1,000 ml, pH 7.0) に接種して25°で4日間培養し, 発育を観察した。

日高¹⁸⁾ の塩分要求試験用培地における発育: 日高の考案した5種類の培地のうち4種類を用いた。すなわちバクトペプトン (Difco) 0.05%, 酵母エキス (Difco) 0.01% に (1) 蒸留水, (2) 0.5%食塩水, (3) 3% 食塩水, (4) Herbst の人工海水にとかし, pH 7.6 としたものを用いた。50% 海水ブイヨンの 25°, 20時間培養菌を接種して, 25° で6日間培養し発育を観察した。

分離菌株の性状試験: 試験培地は特記しない限り, 好

Table 1. Fish Samples Used for the Investigation of Psychrophilic Spoilage Bacteria

No.	English name	Scientific name	Japanese name	Source	Date
1	Horse mackerel	<i>Trachurus japonicus</i>	Maaji	Kotsubo harbour	Nov. 11, 1969
2	Common mackerel	<i>Scomber japonicus</i>	Masaba	Kotsubo harbour	Jun. 11, 1970
3	Horse mackerel	<i>Trachurus japonicus</i>	Maaji	Kotsubo harbour	Jun. 11, 1970
4	White croaker	<i>Argyrosomus argentatus</i>	Ishimochi	Kotsubo harbour	Jun. 11, 1970
5	Sardine	<i>Sardinops melanosticta</i>	Maiwashi	Retail shop A	Jun. 12, 1970
6	Sweetlip	<i>Parapristipoma trilineatum</i>	Isaki	Retail shop B	Jun. 12, 1970
7	Horse mackerel	<i>Trachurus japonicus</i>	Maaji	Retail shop C	Jun. 12, 1970
8	Horse mackerel	<i>Trachurus japonicus</i>	Maaji	Retail shop A	Oct. 3, 1970
9	Little tuna	<i>Euthynnus affinis</i>	Suma	Retail shop B	Oct. 3, 1970
10	Horse mackerel	<i>Trachurus japonicus</i>	Maaji	Retail shop B	Oct. 3, 1970

塩性菌株の場合には、培地を75%海水に溶かし、非好塩性菌株の場合には0.5%食塩水に溶かして用いた。接種菌もそれに準じて、75%海水ブイオンまたは0.5%食塩ブイオンに18~24時間培養した。一般に培養は25°で行なった。運動性はSIM培地(栄研)により観察し、不明確なものについては懸滴標本検査を行なった。チトクロームオキシダーゼ試験はKovacs¹⁹⁾の方法によった。グルコースの分解試験は非好塩性菌株についてはHugh and Leifson²⁰⁾の培地、好塩性菌株についてはLeifson²¹⁾のMOF培地を用いた。なお*Micrococcus*および*Staphylococcus*の鑑別にはBaird-Parker²²⁾の方法を用いた。アルギニンの分解試験はThornley²³⁾の方法によった。ペニシリン感受性試験はCorlettら²⁴⁾が採用した培地を用いた。すなわち、ペプトン(Difco)0.5%, トリプトン(Difco)0.25%, 酵母エキス0.5%, グルコース0.1%, 寒天2%, pH 7.0を基礎培地とし、これにペニシリンGカリウム塩3I.U./mlを加えた。けい光色素産生試験はGaribaldi²⁵⁾の培地を改変したもの(Plate Count Agar(Difco)2.35%, 粉末卵白アルブミ

ン(東京化成)0.4%, pH 7.0)を用い、7日間観察した。非水溶性黄色色素産生試験は2%食塩加ミルク寒天平板培地(ポリペプトン10g, 肉エキス5g, 食塩20g, スキムミルク(Difco)30g, 寒天30g, 蒸留水1.000ml, pH 7.0)で培養し、6日間観察した。カタラーゼ産生試験はManual of Microbiological Methods²⁶⁾記載の方法によって試験した。

純培養菌による魚肉からの腐敗臭の発生試験: 供試菌株として、新鮮時および腐敗時の試料から分離した菌株のうち*Pseudomonas* I 7株, *Pseudomonas* II 15株, *Pseudomonas* III/IV-NH 24株, *Pseudomonas* III/IV-H 29株, *Vibrio* 16株, *Moraxella* 2株, 計93株を用いた。供試魚肉としてきわめて新鮮なブリの背肉を用いた。滅菌生理食塩水0.5mlを無菌的に中試験管に分注し、これにあらかじめブイオン寒天斜面培地に25°で24時間培養した菌の2白金耳を浮遊させ、濃厚な菌液をつくり、この中に無菌的に切りとった肉片約1gをいれて混和し、滅菌ゴムセンで密封し、5°に放置し、官能的に腐敗臭の発生を検査した。

Table 2. Bacterial Counts of Fresh and Spoiled Fish Stored at 0.5°C

No.	Sample	Storage days	Odour	TVB-N mg %	TMA-N mg %	Bacterial counts	
						Skin/cm ²	Muscle/g
1	Horse mackerel	0	Fresh	10.5	0	1.2×10 ⁴	
		12	Spoiled	23.6	8.2	4.3×10 ⁶	4.9×10 ⁶
2	Common mackerel	0	Fresh	11.3	0	6.0×10 ⁸	
		18	Spoiled	20.9	1.5	8.8×10 ⁵	4.0×10 ⁶
3	Horse mackerel	0	Fresh	13.2	0	1.0×10 ⁴	
		17	Spoiled	26.5	6.5	1.3×10 ⁹	5.9×10 ⁵
4	White croaker	0	Fresh	10.9	0	5.3×10 ⁸	
		14	Spoiled	18.9	1.4	1.9×10 ⁸	1.3×10 ⁷
5	Sardine	0	Fresh	17.2	0	1.5×10 ⁴	
		11	Spoiled	22.2	2.2	7.3×10 ⁸	9.9×10 ⁶
6	Sweetlip	0	Fresh	15.0	0	1.3×10 ⁶	
		6	Spoiled	19.8	2.5	1.1×10 ⁸	5.4×10 ⁶
7	Horse mackerel	0	Fresh	13.9	0	1.4×10 ⁶	
		6	Spoiled	25.1	6.3	2.9×10 ⁸	5.9×10 ⁵
8	Horse mackerel	0	Fresh	12.5	0	1.0×10 ⁵	
		9	Spoiled	20.7	6.0	7.3×10 ⁸	1.4×10 ⁷
9	Little tuna	0	Fresh	18.8	0	10 ⁸ >	
		13	Spoiled	30.3	11.1	1.5×10 ⁸	3.1×10 ⁵
10	Horse mackerel	0	Fresh	13.3	0	1.6×10 ⁵	
		9	Spoiled	28.5	5.7	9.4×10 ⁸	4.4×10 ⁷

実験結果および考察

低温で腐敗した海産魚試料の生菌数: 鮮魚の10試料を0.5°に貯蔵し, 官能的に腐敗に達した試料について筋肉の TVB-N, TMA-N, 筋肉および皮膚の生菌数を測定し, 新鮮時の測定値と比較した結果を Table 2 に示し

た.

皮膚 1 cm² の生菌数は水揚げ直後の試料で 10³~10⁴, 小売店の試料ではスマを除いて 10⁴~10⁶程度であった。腐敗した試料の生菌数は皮膚ではマサバを除いて 10⁶~10⁹, 筋肉では10⁶~10⁷であった。

Table 3. Identification of the Isolated Strains at the Generic Level according to the Morphological and Biological Characteristics

Test \ Group (Genus)	<i>Pseudo-monas</i> I	<i>Pseudo-monas</i> II	<i>Pseudo-monas</i> III/IV	<i>Vibrio</i>	<i>Moraxella</i>	<i>Acinetobacter</i>	<i>Flavobacterium-Cytophaga</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>	Not determined
Form	Rod	Rod	Rod	Rod	Stout rod	Stout rod	Rod	Coccus	Coccus	Rod or coccus
Gram stain	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+, -
Motility	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+, -
Cytochrome oxidase	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+, -
Acid from glucose	aerobic	+	+	- ~ ±	±	-	-	+, -	+, -	+, -
	anaerobic	- ~ ±	- ~ ±	- ~ ±	±	-	-	-	+	+, -
Arginine decomposition	+	+	- (+, 1)	- (+, 2)	-	-	-	-	-	+, -
Penicillin sensitivity	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+, -
Fluorescent pigment	+	-								
Yellow pigment					-	-	+	-	-	-
Catalase reaction					+	+	+	+	+	-
No. of strains (402)	14	32	236	88	21	1	1	4	1	4
Percentage	3.4	7.9	58.7	21.9	5.2	0.3	0.3	1.0	0.3	1.0

Table 4. Growth of the Test Strains of the Five Groups in Two Broth Media Different in Sodium Chloride Concentration

NaCl %		No. of the strains of each group				
0.5	3	<i>Ps</i> I	<i>Ps</i> II	<i>Ps</i> III/IV	<i>Vibrio</i>	<i>Moraxella</i>
±	+	14	31	66	3	0
+	+ ~ ±	0	0	0	37	8
- ~ ±	±	0	0	110	6	3
Total (278)		14	31	176	46	11

Figures indicate the number of strains.

±: very good growth +: good growth

±: slight growth -: no growth

分離菌株の同定: 新鮮時の試料から104株, 腐敗魚の皮膚から150株, 腐敗魚の筋肉から148株, 合計402菌株を分離し, 形態学的ならびに生物学的性状を検討し, *Pseudomonas* および *Vibrio* については主として Shewan ら²⁾ の分類により, *Moraxella* と *Acinetobacter* については Baumann ら¹³⁾¹⁴⁾ の方法により, *Micrococcus* と *Staphylococcus* の鑑別は Baird-Parker²²⁾ の方法により, 属レベルの同定を行なった。

Table 3 に示したように, 分離菌株の中で *Pseudomonas* III/IV 群が 58.7% で過半数を占めており, *Vibrio* が 21.8% でこれにつぎ, さらに *Pseudomonas* II 7.9%, *Moraxella* 5.2%, *Pseudomonas* I 3.4% の順で, これらの 5 菌群で全体の 97% を占め, 冷蔵魚のマイクロフローラにおけるこの 5 菌群の重要性が示唆された。Table 3 における *Moraxella* ならびに *Acinetobacter* は, かつては *Achromobacter* といわれたものであるが, ここでは Baumann らにしたがいチトクロームオキシダーゼ+, ペニシリン感受性+のものを *Moraxella* とし, 反対の性状のものを *Acinetobacter* とした。いずれも菌形は丸みを持ち, 球形に近く球菌とはなはだまぎらわしい場合が多かった。

分離菌株の塩分要求性: *Pseudomonas* I 14株, *Pseudomonas* II 31株, *Pseudomonas* III/IV 176株, *Vibrio* 46株, *Moraxella* 11株, 合計278株について0.5%食塩および3%食塩を加えた2種類のブイヨンにおける発育を比較し, その結果を Table 4 に示した。

Pseudomonas I および II のすべての菌株は3%食塩よりも0.5%食塩のブイヨンにおいて旺盛な発育を示したのに対し, *Pseudomonas* III/IV 群では176株の中66株は *Pseudomonas* I, II と同様に非好塩性を示したが, 残り110株はまったく反対に, 0.5%食塩ブイヨンでは発育が悪く, 3%食塩ブイヨンで旺盛に発育し, 好塩性を示した。このように *Pseudomonas* III/IV 群の菌株は食塩要求性の上で明確に異なる2群に大別されたので, 食塩を要求しない菌群を *Pseudomonas* III/IV-NH (非好塩性菌, Nonhalophile), 要求する菌群を

Pseudomonas III/IV-H (好塩性菌, Halophile) として仮に群別することとした。*Vibrio* では0.5%食塩の方で旺盛に発育したものはわずか3株で, また *Moraxella* ではこのように明らかな非好塩性菌はみられなかった。前記の試験菌278株について日高¹⁸⁾の培地における発育を観察した結果を Table 5 に示した。

Pseudomonas I, II, III/IV-NH の菌株はすべて0.5%食塩の培地に発育した。またその中の大部分の菌株は食塩無添加の培地にも発育した。一方 *Pseudomonas* III/IV-H では110株中88株が海水培地だけに発育し, 海水塩分要求性を示した。また残り22株は海水を要求せず, 3%食塩培地でも発育を示した。これに対し *Vibrio* では, 海水を要求する菌株は認められず, 大部分のものは0.5%食塩培地に発育を示した。*Moraxella* では大部分が海水を要求し, 食塩無添加培地で発育する菌株はみられなかった。海産魚のマイクロフローラは海水のマイクロフローラと密接な関係があるといわれているが, *Pseudomonas* I, II および III/IV-NH には好塩性はみられなかった。これに対し *Pseudomonas* III/IV-H の大部分の菌株は海水塩分の要求性を示し, 海水由来のものと考えられる。

新鮮時および腐敗時における各菌群の分離状態: 新鮮時の鮮魚の皮膚, および腐敗時の皮膚および筋肉における各菌群の分離状態を Table 6 に示した。

新鮮時は *Pseudomonas* III/IV-H がもっとも多く, これについて *Vibrio*, *Pseudomonas* III/IV-NH, *Moraxella* が多かったが, 試料別にみると, 水揚げ直後の試料(1~4)では *Pseudomonas* III/IV-H の菌株が多く分離されており, 小売店の試料(5~10)ではむしろ *Vibrio*, *Moraxella*, *Pseudomonas* III/IV-NH などの菌株が多かった。腐敗時においては, 皮膚, 筋肉ともに新鮮時と同様 *Pseudomonas* III/IV-H の分離菌株数が増え, *Vibrio* と *Pseudomonas* III/IV-NH がこれについて多かった。*Pseudomonas* I および II は新鮮時にほとんどみられなかったが, 腐敗時にはいくつかの試料にかなり増殖したようである。それに対し,

Table 5. Growth Response of the Test Strains of the Six Groups in the Four Types of Media, Different in Salt Content, according to Hidaka's Method

Type of media				Group (278 strains)					
Distilled water	0.5% NaCl solution	3% NaCl solution	Artificial sea water	Ps I	Ps II	Ps III/VI-NH	Ps III/IV-H	Vibrio	Moraxella
				14	31	66	110	46	11
+	+	+	+	13	23	46	0	3	0
-	+	+	+	1	8	20	0	34	1
-	-	+	+	0	0	0	22	9	2
-	-	-	+	0	0	0	88	0	8

Figures indicate the number of strains

+: Growth -: No growth

Table 6. Bacterial Flora of Fresh and Spoiled Fish Stored at 0.5°C

Fresh or Spoiled	Sample		Group (Genus)	No. of strains	<i>Pseudomonas</i> I	<i>Pseudomonas</i> II	<i>Pseudomonas</i> III/IV-NH	<i>Pseudomonas</i> III/IV-H	<i>Vibrio</i>	<i>Moraxella</i>	<i>Acinetobacter</i>	<i>Flavobacterium</i> - <i>Cytophaga</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>	Not determined	
	No.															
Fresh (Skin)	1	Horse mackerel	15	0	0	0	13	1	1	0	0	0	0	0	0	
	2	Common mackerel	10	0	0	5	3	1	1	0	0	0	0	0	0	
	3	Horse mackerel	10	0	0	5	3	1	1	0	0	0	0	0	0	
	4	White croaker	10	0	0	0	9	0	0	0	0	0	0	0	1	
	5	Sardine	10	0	1	3	0	0	4	0	0	2	0	0	0	
	6	Sweetlip	9	0	0	1	1	7	0	0	0	0	0	0	0	
	7	Horse mackerel	10	0	1	6	1	2	0	0	0	0	0	0	0	
	8	Horse mackerel	15	0	1	2	1	1	6	1	1	0	1	1	1	
	9	Little tuna														
	10	Horse mackerel	15	0	0	0	0	13	1	0	0	1	0	0	0	
	Total			104	0	3	22	31	26	14	1	1	3	1	2	
	Percentage			100	0	2.9	21.2	29.8	25.0	13.5	1.0	1.0	2.9	1.0	1.9	
Spoiled (Skin)	1	Horse mackerel	15	0	0	1	11	2	1	0	0	0	0	0	0	
	2	Common mackerel	15	2	4	1	0	8	0	0	0	0	0	0	0	
	3	Horse mackerel	15	0	4	4	6	1	0	0	0	0	0	0	0	
	4	White croaker	15	0	0	0	6	9	0	0	0	0	0	0	0	
	5	Sardine	15	5	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	6	Sweetlip	15	0	0	4	11	0	0	0	0	0	0	0	0	
	7	Horse mackerel	15	0	0	8	6	1	0	0	0	0	0	0	0	
	8	Horse mackerel	15	0	0	7	0	7	1	0	0	0	0	0	0	
	9	Little tuna	15	0	0	4	2	9	0	0	0	0	0	0	0	
	10	Horse mackerel	15	0	0	7	6	2	0	0	0	0	0	0	0	
	Total			150	7	18	36	48	39	2	0	0	0	0	0	
	Percentage			100	4.7	12.0	24.0	32.0	26.0	1.3	0	0	0	0	0	
Spoiled (Muscle)	1	Horse mackerel	13	0	1	0	11	0	0	0	0	1	0	0	0	
	2	Common mackerel	15	0	1	8	1	5	0	0	0	0	0	0	0	
	3	Horse mackerel	15	0	1	7	6	1	0	0	0	0	0	0	0	
	4	White croaker	15	0	0	1	10	4	0	0	0	0	0	0	0	
	5	Sardine	15	6	8	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	6	Sweetlip	15	1	0	4	8	1	1	0	0	0	0	0	0	
	7	Horse mackerel	15	0	0	7	4	2	2	0	0	0	0	0	0	
	8	Horse mackerel	15	0	0	8	1	4	1	0	0	0	0	1	1	
	9	Little tuna	15	0	0	4	4	5	1	0	0	0	0	1	1	
	10	Horse mackerel	15	0	0	2	12	1	0	0	0	0	0	0	0	
	Total			148	7	11	42	57	23	5	0	0	1	0	2	
	Percentage			100	4.7	7.4	28.4	38.5	15.5	3.4	0	0	0.7	0	1.4	
Total			402	14	32	100	136	88	21	1	1	4	1	4		

Figure shows No. of isolates

Table 7. The Production of Spoilage Odour from Fish Muscle by the Pure Cultures

Group	No. of strains (93)	Typical offensive spoilage odours	Atypical odours
<i>Pseudomonas</i> I	7	0	7
<i>Pseudomonas</i> II	15	0	15
<i>Pseudomonas</i> III/IV-NH	24	16	8
<i>Pseudomonas</i> III/IV-H	29	14	15
<i>Vibrio</i>	16	5	11
<i>Moraxella</i>	2	0	2

Figure shows No. of strains

Moraxella の分離菌株数は腐敗時にかなり減少した。Shewan ら¹⁾のタラにおける研究では、腐敗時のマイクロフローラで *Pseudomonas-Achromobacter* が大部分を占めており、今回の結果はこれとやや異なっていた。腐敗魚のマイクロフローラの中で従来 *Vibrio* はあまり重視されていないのであるが、本成績によると腐敗細菌として *Moraxella* よりむしろ *Vibrio* の重要性が示唆された。清水¹⁰⁾も魚の腐敗における *Vibrio* の役割について重視すべきであると述べている。

純培養菌によるブリ肉からの腐敗臭の発生：5°で11日間放置後におけるブリ肉からの腐敗臭の発生を官能的に試験した結果を Table 7 に示した。

Pseudomonas III/IV-NH は24株中16株、*Pseudomonas* III/IV-H は29株中14株、*Vibrio* は16株中5株が典型的な腐敗臭を産生したが、*Pseudomonas* I, II および *Moraxella* の全試験菌株は典型的な腐敗臭を産生しなかった。少なくとも本研究における腐敗魚のマイクロフローラの中では *Pseudomonas* III/IV-H、*Pseudomonas* III/IV-NH および *Vibrio* が数的に優勢だけでなく、腐敗活性も大であり、代表的な腐敗細菌群と考えられる。

要 約

水揚げ直後の鮮魚4試料、小売店で入手した鮮魚6試料を0.5°で冷蔵し腐敗させ、新鮮時の皮膚、および腐敗時の皮膚および筋肉の生菌数を測定し、菌株を分離した。

新鮮時の皮膚から104株、腐敗時の皮膚から150株、筋肉から148株、計402株を分離し、Shewan らの群別法にしたがって同定したところ、*Pseudomonas* III/IV が大半を占め、そのほか *Vibrio*、*Pseudomonas* II、*Pseudomonas* I、*Moraxella* が主要なものであった。

また *Pseudomonas* III/IV 群には好塩性 (*Pseudomonas* III/IV-H) と非好塩性 (*Pseudomonas* III/IV-NH) の明確な2群の存在することをみとめた。

Pseudomonas III/IV-H と *Moraxella* の大部分は海水塩分要求性があり、*Pseudomonas* I, II, III/IV-NH は完全に非好塩性であり、*Vibrio* の多くはわずかなが

ら塩分要求性をもっていた。

新鮮時の皮膚では *Pseudomonas* III/IV-H、*Vibrio*、*Pseudomonas* III/IV-NH が多く、*Moraxella* がこれについて。腐敗時には皮膚、筋肉とも *Pseudomonas* III/IV-H がもっとも多く、*Pseudomonas* III/IV-NH と *Vibrio* がこれについており、この3群が腐敗魚のマイクロフローラの中で主要なものと考えられる。また腐敗時には *Pseudomonas* II および I が少し増加しており、*Moraxella* は減少した。

ブリ肉に各菌群の純培養菌を接種し、5°に放置し、腐敗臭の産生を官能的に検査したところ、典型的腐敗臭を産生する菌株は *Pseudomonas* III/IV-NH にもっとも多く、*Pseudomonas* III/IV-H および *Vibrio* がこれにつき、*Pseudomonas* I, II および *Moraxella* の3群にはみられなかった。

なお本研究の一部は文部省科学研究費（試験研究）によった。

文 献

- Shewan, J. M., Hobbs, G., Hodgkiss, W.: J. appl. Bact. 23, 463 (1960).
- Shewan, J. M., Hobbs, G., Hodgkiss, W.: *ibid.* 23, 379 (1960).
- Lerke, P., Adams, R., Farber, L.: Appl. Microbiol. 11, 458 (1963).
- Lerke, P., Adams, R., Farber, L.: *ibid.* 13, 625 (1965).
- Adams, R., Farber, L., Lerke, P.: *ibid.* 12, 277 (1964).
- Levin, R. E.: *ibid.* 16, 1734 (1968).
- Chai, T., Chen, C., Rosen, A., Levin, R. E.: *ibid.* 16, 1738 (1968).
- Lee, J. S., Harrison, J. M.: *ibid.* 16, 1937 (1968).
- Shaw, B. G., Shewan, J. M.: J. appl. Bact. 31, 89 (1968).
- 清水 潮: 日水誌. 35, 768 (1969).

- 11) Herbert, R. A., Hendrie, M. S., Gibson, D. M., Shewan, J. M.: J. appl. Bact. **34**, 41 (1971).
- 12) Thornley, M. J.: J. gen. Microbiol. **49**, 211 (1967).
- 13) Baumann, P., Doudoroff, M., Stanier, R. Y.: J. Bacteriol. **95**, 58 (1968).
- 14) Baumann, P., Doudoroff, M., Stanier, R. Y.: *ibid.* **95**, 1520 (1968).
- 15) Shewan, J. M.: J. appl. Bact. **34**, 299 (1971).
- 16) Lyman, J., Freming, R. H.: J. Marine Res. **3**, 134 (1940).
- 17) 厚生省編: “食品衛生検査指針 (I)”, (1959).
- 18) 日高富男: 鹿児島大学水産学部紀要 **12**, 135 (1964).
- 19) Kovacs, N.: Nature **178**, 703 (1956).
- 20) Hugh, R., Leifson, E.: J. Bacteriol. **64**, 24 (1953).
- 21) Leifson, E.: *ibid.* **85**, 1183 (1963).
- 22) Baird-Parker, A. C.: “Identification Methods for Microbiologists Part A”, p. 59, (1966). Academic Press, New York and London.
- 23) Thornley, M. J.: J. appl. Bact. **23**, 37 (1960).
- 24) Corlett, D. A., Lee, J. S., Sinnhuber, R. O.: Appl. Microbiol. **13**, 818 (1965).
- 25) Garibaldi, J. A.: J. Bacteriol. **94**, 1296 (1967).
- 26) Society of American Bacteriologist: “Manual of Microbiological Methods”, (1957) Mc Graw Hill Book Co., Inc., New York.