生乳における低温細菌群のタンパクおよび脂肪分解能

(昭和 50 年 7 月 7 日受理)

日 越 博 信* 浜 田 輔 一*

Proteolytic and Lipolytic Activities of Psychrotrophic Bacteria
Originated from Raw Milk

Hironobu HIGOSHI and Sukekazu HAMADA

(Department of Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Medicine,
Hokkaido University: Kita 18 jo Nishi 9-chome, Kita-ku, Sapporo)

The proteolytic (in skim milk agar) and lipolytic (in Tributyrin agar and Clossry's agar) activities of the bacteria isolated at 5°C for 10 days and 20°C for 4 days incubations from raw milk were tested at 5°C for 10 days, 20°C for 4 days, and 35°C for 2 days incubations respectively.

Of the 792 strains isolated at 5°C incubation, 23.1% showed the proteolytic activity, and 40.9% showed the lipolytic activity in the Tributyrin agar, and 48.0% in Clossry's agar. Of the 588 strains isolated at 20°C incubation, 37.9, 17.9, and 23.6% showed the proteolytic or lipolytic activity respectively.

In the 792 strains isolated at 5°C incubation, the number of strains showed both proteolysis and lipolysis at 20°C incubation was the most, and the one at 5°C incubation was next. On the other hand, in the 588 strains isolated at 20°C incubation, the greatest number of strains showed both proteolysis and lipolysis was at 20°C incubation, and the next was at 35°C incubation.

The percentage of strains showed proteolytic activity was high in *Bacillus*, coliform bacteria, *Pseudomonas* isolated at 5°C incubation, and was high in *Pseudomonas*, *Alcaligenes-Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Streptococcus*, coliform bacteria isolated at 20°C incubation. Most of gram-negative bacilli showed proteolytic activity at 5 and 20°C incubation, and, most of gram-positive bacilli and cocci showed at 20°C and 35°C.

The percentage of strains showed lipolytic activities to both tributyrin and butter-fat was more than 70% in *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes-Achromobacter*, unclassified gram-negative bacilli and coliform bacteria isolated at 5°C incubation, also *Pseudomonas* showed lipolysis to butter-fat in more than 70% of strains. In the strains isolated at 20°C incubation, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Aeromonas*, and coliform bacteria had respectively high percentage of strains showed lipolysis in both tributyrin and butter-fat.

Coliform bacteria and *Pseudomonas* were main proteolytic and lipolytic activators, and most strains of them showed strongly their activities at 20°C incubation.

(Received July 7, 1975)

低温細菌群の存在は、低温で発育できるばかりでなく、冷蔵保存中の食品類に悪影響を及ぼすことで重要視されてきた^{1)~5)}。実際に低温細菌群は、冷蔵保存中の乳および乳製品に種々な異臭、異味などをきたし、品質の低下のみならず最終的にはそれらを腐敗にまで導くこと

が知られている^{6)~8)}。これらの原因の多くは低温細菌群が、タンパク分解能あるいは脂肪分解能を持っていることと関係している^{9)~11)}。しかし低温細菌群のこれら分解能に関する報告は、多くの場合本細菌群の至適発育温度(25°)付近で試験されたものであり、5~7°培養での試験成績に関しては意外に少ない。

* 北海道大学獣医学部: 札幌市北区北 18 条西 9 丁目

著者らは、生乳の低温細菌群による汚染の実態、生乳由来本細菌群の性質などを知る目的で、先に分房生乳¹²⁾と、工場生乳¹³⁾を対象に、5, 20, および 35° 培養における菌数と、各温度別に分離した全菌株の同定ならびに 0, 5, 20, および 35° での発育試験などの成績を報告してきた。

今回は、分房生乳および工場生乳から 5 および 20° 培養で分離した菌株について、5, 20, および 35° におけるタンパク分解能および脂肪分解能を検討したので、得られた成績を報告する。

材料および方法

1. 供試菌株

供試菌株は、先に報告した分房生乳¹²⁾ および 工場生乳¹³⁾ から、5°, 10日培養で分離した 792 株と、20°, 4日培養で分離した 588 株、合計 1,380 株である。なお 5° 分離菌 792 株の内訳は *Micrococcus* 249 株, *Pseudomonas* 99 株, 非同定グラム陽性桿菌 77 株, 大腸菌群および非同定グラム陰性桿菌各 61 株, *Alcaligenes*—*Achromobacter* 58 株, *Flavobacterium* 51 株, *Acinetobacter* 49 株, *Staphylococcus* 39 株, *Streptococcus* 30 株などである。20° 分離菌 588 株の内訳は *Micrococcus* 172 株,

Staphylococcus 83 株, 非同定グラム陽性桿菌 63 株, *Streptococcus* 60 株, 非同定グラム陰性桿菌 47 株, *Flavobacterium* 43 株, 大腸菌群 38 株, *Pseudomonas* 30 株, *Alcaligenes*—*Achromobacter* 26 株などである。

2. タンパクおよび脂肪分解能の試験方法

タンパク分解能の試験には、酵母エキスを寒天培地 (pH 7.2) に 10% 脱脂粉乳 (Difco) 液を 10% の割合に加えたものを用いた。

脂肪分解能の試験には、クロスリー寒天培地 (栄研) と、Marks¹⁴⁾ の報告に準拠したトリブチリン (東京化成) 1% 加酵母エキスを寒天培地の、2 種を用いた。

前記 3 種の培地平板それぞれ 3 枚に、あらかじめ普通寒天培地 (栄研) 平板に 20°, 24~48 時間培養した供試菌を穿刺接種後、それぞれ 1 枚ずつを 5° で 10 日、20° で 4 日、35° で 2 日培養して、分解能の有無および程度を 24 時間ごとに観察した。なお脱脂乳加寒天平板およびトリブチリン加寒天平板では、集落周囲の透明帯の幅が 1.0 mm 以上のものを陽性とし、その幅が 1.0~3.0 mm のものを +, 3.1~5.0 mm のものを ++, 5.1 mm 以上のものを +++ とした。

Table 1. Proteolytic Activity (to Skim Milk) at Different Incubation Temperatures of Organisms Isolated at 5°C Incubation from Raw Milk Samples

Organism	No. of strains examined	Incubation temperature shown proteolysis							Total
		5°*1	20°*1	35°*1	5°20°35°*2	5°20°*3	20°35°*3	5°35°*3	
<i>Pseudomonas</i>	99	2	4	.	.	31	.	.	37 (37.4)*4
<i>Flavobacterium</i>	51	2	1	.	.	10	.	.	13 (25.5)
<i>Alcaligenes</i> <i>Achromobacter</i>	58	.*5	.	.	.	.	.	.	.
<i>Acinetobacter</i>	49	.	.	1	.	1	.	.	2 (4.1)
<i>Aeromonas</i>	1	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>Coliform bacteria</i>	61	2	2	.	17	16	2	1	40 (65.6)
<i>Staphylococcus</i>	39	1	1	3	.	.	1	.	6 (15.4)
<i>Micrococcus</i>	249	2	4	3	19	1	28	.	57 (22.9)
<i>Streptococcus</i>	30	.	2	.	1	.	2	.	5 (16.7)
<i>Bacillus</i>	3	.	1	.	.	.	1	.	2 (66.7)
Yeast	5	.	.	.	.	.	.	.	.
Unclassified									
Gram (-) rods	61	.	.	.	1	1	.	.	2 (3.3)
Gram (+) rods	77	.	2	.	1	9	5	.	17 (22.1)
Gram (+) cocci	9	.	.	1	1	.	.	.	2 (22.2)
Total	792	9	17	8	40	69	39	1	183 (23.1)

*1 The lytic activity is shown only at 5, 20, or 35°C, respectively.

*2 The lytic activity is shown at all three incubation temperatures.

*3 The lytic activity is shown at both 5° and 20°C, 20 and 35°C, or 5° and 35°C incubation, respectively.

*4 Number in parenthesis indicates percentage.

*5 .: Zero.

成績

タンパク分解能

5°分離菌 792 株のタンパク分解成績を Table 1 にまとめて示した。

3 種の培養温度を通して分解を示した株数は 183 (23.1%) であった。このうち 5° と 20° で陽性の株が最多であり、次いで 3 種の温度で陽性の株数、20° と 35° で陽性の株数が多かった。なお 2 種以上の温度で陽性を示した菌株のうち 20° で陽性の株数が 165 と最も多く、次いで 5° で陽性が 119 株、35° で陽性が 88 株であった。

Genus 別では、*Bacillus* 3 株中 2 株 (66.7%) は別として、大腸菌群、*Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Micrococcus* などの陽性率が高かった。なお *Micrococcus* では 20° と 35° で陽性の株が最も多く、大腸菌群では 3 種の温度共に、また 5° と 20° で陽性を示す株が多かった。これに対して *Pseudomonas* および *Flavobacterium* では陽性株のほとんどが 5° と 20° で分解を示し、さらにこれ以外の陽性株でも 5° または 20° 単独で分解を示していた。なお陽性株のうち 廿〜卅 程度の分解を示した株数は、20° 陽性株に最も多く、次いで 5° 陽性株にであった。

20° 分離菌 588 株のタンパク分解成績を Table 2 に示した。

3 種培養温度を通して 37.9% の菌株が陽性であり、この数値は 5° 分離菌株のそれに比べてかなり高い。このうち 20° 単独で陽性を示す株が最も多く、20° と 35° で

陽性の株数、5° と 20° で陽性の株数がこれに次いでいる。これら陽性株のうち、20° で陽性の株数が 195 と最も多く、この状況は 5° 分離菌株の場合と同じであったが、次に多いのは 35° で陽性の 91 株であったことは、5° 分離菌株の場合とは異なった。5° で陽性の株数は 63 であった。

Genus 別にみた陽性率では、*Pseudomonas* が 70% と最高であり、次いで *Alcaligenes*—*Achromobacter*, *Flavobacterium*, 非同定グラム陰性桿菌, *Streptococcus*, *Aeromonas*, 大腸菌群の順に高かった。これらの陽性率は、大腸菌群を除くと、5° 分離菌株のそれぞれの陽性率よりも著しく高く、特に *Alcaligenes*—*Achromobacter* で著明であった。なおこれらのうち *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, 大腸菌群では 5° と 20° で陽性の株が多く、*Alcaligenes*—*Achromobacter* および非同定グラム陰性桿菌では 20° 単独で陽性の株が多かった。*Streptococcus* では 20° と 35° で、および 20° 単独で陽性の株が多かった。なお 5° で陽性の株にはその程度の強いものが多かった。

脂肪分解能

5° 分離菌株のトリブチリン分解の成績を Table 3 に示した。

3 種培養温度を通して 324 株 (40.9%) が分解を示した。このうち 5° と 20° で陽性の株が圧倒的に多く、3 種温度いずれも陽性の株がこれに次いで多かった。5° あるいは 20° 単独でも比較的多数のものが陽性であった。な

Table 2. Proteolytic Activity (to Skim Milk) at Different Incubation Temperatures of Organisms Isolated at 20°C Incubation from Raw Milk Samples

Organism	No. of strains examined	Incubation temperature shown proteolysis							Total
		5°*	20°*	35°*	5°20°35°*	5°20°*	20°35°*	5°35°*	
<i>Pseudomonas</i>	30	1	6	.	.	14	.	.	21 (70.0)*
<i>Flavobacterium</i>	43	1	5	.	1	16	3	.	26 (60.5)
<i>Alcaligenes</i> <i>Achromobacter</i>	26	.*	12	1	.	1	3	.	17 (65.4)
<i>Acinetobacter</i>	2	.	.	.	.	.	.	.	.
<i>Aeromonas</i>	2	.	.	.	1	.	.	.	1 (50.0)
<i>Coliform bacteria</i>	38	.	3	.	3	10	2	.	18 (47.4)
<i>Staphylococcus</i>	83	.	4	12	.	1	4	.	21 (25.3)
<i>Micrococcus</i>	172	.	4	7	1	4	13	.	29 (16.9)
<i>Streptococcus</i>	60	.	15	1	.	.	16	.	32 (53.3)
Yeast	3	.	.	.	.	.	.	.	.
Unclassified									
Gram (−) rods	47	1	19	.	.	7	.	.	27 (57.4)
Gram (+) rods	63	.	4	4	.	.	15	.	23 (36.5)
Gram (+) cocci	19	.	3	.	.	1	4	.	8 (42.1)
Total	588	3	75	25	6	54	60	.	223 (37.9)

* See the footnote in Table 1.

Table 3. Lipolytic Activity (to Tributyrin) at Different Incubation Temperatures of Organisms Isolated at 5°C Incubation from Raw Milk Samples

Organism	No. of strains examined	Incubation temperature shown lipolysis							Total
		5°*	20°*	35°*	5°20°35°*	5°20°*	20°35°*	5°35°*	
<i>Pseudomonas</i>	99	11	10	.	1	27	.	1	50 (50.5)*
<i>Flavobacterium</i>	51	1	.	.	1	6	.	.	8 (15.7)
<i>Alcaligenes</i> <i>Achromobacter</i>	58	5	1	.	11	31	.	.	48 (82.8)
<i>Acinetobacter</i>	49	5	.	1	16	20	1	.	43 (87.8)
<i>Aeromonas</i>	1	.*	.	.	.	.	.	.	.
<i>Coliform bacteria</i>	61	.	12	.	20	12	.	.	44 (72.1)
<i>Staphylococcus</i>	39	.	.	7	1	.	6	3	17 (43.6)
<i>Micrococcus</i>	249	3	4	4	8	15	1	.	35 (14.1)
<i>Streptococcus</i>	30	.	.	.	.	1	.	.	1 (3.3)
<i>Bacillus</i>	3	.	.	.	.	.	3	.	3 (100.0)
Yeast	5	.	.	.	1	.	.	.	1 (20.0)
Unclassified									
Gram(-) rods	61	3	3	.	17	24	.	.	47 (77.0)
Gram(+) rods	77	6	1	.	6	13	.	.	26 (33.8)
Gram(+) cocci	9	.	.	.	1	.	.	.	1 (11.1)
Total	792	34	31	12	83	149	11	4	324 (40.9)

* See the footnote in Table 1.

おこれらの陽性株では、20°で陽性が274株、5°で陽性が270株と多かったが、35°での陽性は110株とこれらの半分以下であった。

陽性率の高い順に Genus を挙げると、*Bacillus*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*—*Achromobacter*, 非同定グラム陰性桿菌、大腸菌群、*Pseudomonas*, *Staphylococcus* などであり、供試株数の圧倒的に多かった *Micrococcus* では陽性株は少かった。これらのうち *Bacillus* の3株ではいずれも20°と35°で陽性であったのに対し、*Alcaligenes*—*Achromobacter*, *Pseudomonas*, 非同定グラム陰性桿菌、*Acinetobacter*, *Micrococcus* では5°と20°で陽性の株が、大腸菌群では3種の温度で陽性の株が最も多かった。なお 1/4 以上の分解を示した株数は5°で陽性の株に最も多かった。

次に5°分離菌株のバター脂肪分解の成績を Table 4 に示した。

全株数の48.0%が分解を示し、これは前記トリブチリン分解陽性率よりもやや高かった。分解を示した株数では、20°で陽性が367、5°で陽性が320、35°で陽性が240であったが、うち207株は3種の温度で共に陽性であった。

陽性率の高い順位では、*Aeromonas* 1株を除き、トリブチリン分解陽性率のそれと全く同じであった。しかし非同定グラム陰性桿菌および *Acinetobacter* の陽性

率は、トリブチリン分解陽性率よりもやや低かった。なお陽性株の多くは、前記のように3種の温度で共に分解を示したが、*Pseudomonas* では5°と20°で分解を示した株が最も多かった。

20°分離菌株のトリブチリン分解については、その成績を Table 5 に示した。

3種の培養温度を通して17.9%が分解を示したが、この数値は5°分離菌株のそれに比べて半分以下であった。分解を示した株数では、20°と35°で陽性のものが最も多く、次いで5°と20°で陽性のものが多かった。すなわち20°で陽性の株が最も多く、次に35°で陽性の株が多かった。

Genus 別では、少数分離株の *Acinetobacter* の2株および *Aeromonas* の1株が陽性であったほかに、大腸菌群、*Staphylococcus*, *Pseudomonas* などに陽性率が高かった。なお *Staphylococcus* では20°と35°で陽性の株が最も多かったが、*Pseudomonas* および大腸菌群では5°と20°で陽性の株が最も多かった。

20°分離菌株のバター脂肪分解の成績を Table 6 に示した。

全体では23.6%の菌株が分解を示した。これは同分離菌株のトリブチリン分解陽性率よりもやや高かったが、5°分離菌株のバター脂肪分解陽性率に比べると半分であった。分解を示した株数では、3種の温度で共に陽性の

Table 4. Lipolytic Activity (to Butter-Fat) at Different Incubation Temperatures of Organisms Isolated at 5°C Incubation from Raw Milk Samples

Organism	No. of strains examined	Incubation temperature shown lipolysis							Total
		5°*	20°*	35°*	5°20°35°*	5°20°*	20°35°*	5°35°*	
<i>Pseudomonas</i>	99	.*	6	.	23	39	3	.	71 (71.7)*
<i>Flavobacterium</i>	51	2	.	.	5	2	1	.	10 (19.6)
<i>Alcaligenes</i>	58	.	2	.	33	12	1	.	48 (82.8)
<i>Achromobacter</i>	49	1	3	.	27	9	1	.	41 (83.7)
<i>Aeromonas</i>	1	.	.	.	1	.	.	.	1 (100.0)
<i>Coliform bacteria</i>	61	.	.	.	37	7	.	.	44 (72.1)
<i>Staphylococcus</i>	39	.	1	.	7	.	13	.	21 (53.8)
<i>Micrococcus</i>	249	2	4	2	28	10	8	.	54 (21.7)
<i>Streptococcus</i>	30	1	3	.	1	.	1	.	6 (20.0)
<i>Bacillus</i>	3	1	.	.	.	.	2	.	3 (100.0)
Yeast	5	.	.	.	1	.	.	.	1 (20.0)
Unclassified									
Gram (-) rods	61	1	1	.	27	16	.	.	45 (73.8)
Gram (+) rods	77	3	7	.	15	7	1	.	33 (42.9)
Gram (+) cocci	9	.	.	.	2	.	.	.	2 (22.2)
Total	792	11	27	2	207	102	31	.	380 (48.0)

* See the footnote in Table 1.

Table 5. Lipolytic Activity (to Tributyrin) at Different Incubation Temperatures of Organisms Isolated at 20°C Incubation from Raw Milk Samples

Organism	No. of strains examined	Incubation temperature shown lipolysis							Total
		5°*	20°*	35°*	5°20°35°*	5°20°*	20°35°*	5°35°*	
<i>Pseudomonas</i>	30	4	1	.	.	8	1	.	14 (46.7)*
<i>Flavobacterium</i>	43	.*	.	.	.	.	.	.	.
<i>Alcaligenes</i>	26	1	.	.	.	.	.	.	1 (3.8)
<i>Achromobacter</i>	2	.	.	.	1	1	.	.	2 (100.0)
<i>Aeromonas</i>	2	.	.	.	1	.	.	.	1 (50.0)
<i>Coliform bacteria</i>	38	.	4	.	6	9	.	.	19 (50.0)
<i>Staphylococcus</i>	83	1	2	9	2	.	25	1	40 (48.2)
<i>Micrococcus</i>	172	2	.	1	1	.	4	.	8 (4.7)
<i>Streptococcus</i>	60	.	.	.	.	.	1	.	1 (1.7)
Yeast	3	.	.	.	.	.	.	.	.
Unclassified									
Gram (-) rods	47	.	.	.	.	5	.	.	5 (10.6)
Gram (+) rods	63	2	4	.	1	1	4	.	12 (19.0)
Gram (+) cocci	19	.	.	.	1	.	1	.	2 (10.5)
Total	588	10	11	10	13	24	36	1	105 (17.9)

* See the footnote in Table 1.

Table 6. Lipolytic Activity (to Butter-Fat) at Different Incubation Temperatures of Organisms Isolated at 20°C Incubation from Raw Milk Samples

Organism	No. of strains examined	Incubation temperature shown lipolysis							Total
		5°*	20°*	35°*	5°20°35°*	5°20°*	20°35°*	5°35°*	
<i>Pseudomonas</i>	30	.*	.	.	11	7	1	.	19(63.3)*
<i>Flavobacterium</i>	43	2	.	.	.	.	1	.	3(7.0)
<i>Alcaligenes</i> <i>Achromobacter</i>	26	.	.	.	2	.	.	.	2(7.7)
<i>Acinetobacter</i>	2	.	.	.	2	.	.	.	2(100.0)
<i>Aeromonas</i>	2	.	.	.	1	.	.	.	1(50.0)
<i>Coliform bacteria</i>	38	.	.	.	17	1	.	.	18(47.4)
<i>Staphylococcus</i>	83	.	1	1	11	.	31	.	44(53.0)
<i>Micrococcus</i>	172	2	8	1	7	3	4	.	25(14.5)
<i>Streptococcus</i>	60	.	.	.	.	.	1	.	1(1.7)
Yeast	3	.	.	.	.	.	.	.	.
Unclassified									
Gram(-) rods	47	1	.	.	1	5	.	.	7(14.9)
Gram(+) rods	63	5	1	1	4	1	4	.	16(25.4)
Gram(+) cocci	19	.	.	.	.	1	.	.	1(5.3)
Total	588	10	10	3	56	18	42	.	139(23.6)

* See the footnote in Table 1.

ものが最も多く、次いで 20° と 35° で陽性のものが多かった。なおトリブチリン分解株と同様に、20° で陽性の株が最も多く、次に 35° で陽性の株が多かった。

Genus 別では、*Acinetobacter* の 2 株中 2 株が陽性であったほかに、*Pseudomonas*, *Staphylococcus*, 大腸菌群に陽性率が高かった。なお大腸菌群、*Pseudomonas* では 3 種の温度で共に、*Staphylococcus* では 20° と 35° で陽性の株が最も多かった。

考 察

低温細菌の産生したリパーゼが耐熱性であり、これが殺菌後の製品にも悪影響を与えることが知られている^{15)~17)}。さらに Thomas & Druce¹⁷⁾ は、リパーゼばかりでなく、低温性 *Pseudomonas* の産生したプロテアーゼが、牛乳の殺菌温度に耐性であったという報告を紹介している。これらのことは優良な製品を得るには、さかのぼってその原料乳自体の品質保持が重要であることを示唆している。

今回、著者らの試験した生乳からの 5 および 20° 分離菌株では、それぞれ 23.1% と 37.9% がタンパク分解を示した。これらの陽性率は、Clark & Reinbold¹⁸⁾ のチェダー・チーズ由来低温細菌の 77% に比べると著しく低い。しかし著者らの供試株においても、*Pseudomonas*, 大腸菌群および *Flavobacterium* では比較的多くの株がタンパク分解を示し、しかもこれらの多数株は 5° と 20° で陽性であった。なお Thomas ら¹⁹⁾ も生乳由来色素産生グラム陰性桿菌の 60% が、Schultze & Olson²⁰⁾

も牛乳由来低温性大腸菌群の多数株が、タンパク分解を示したと報告している。

なおタンパク分解試験において、5° 分離菌株よりも 20° 分離菌株の方に陽性率が高く、また同じ Genus でも分離した温度によって陽性率が異なった。これらの相違は分離された温度によって Species が異なるのかもしれない。しかし 5 および 20° 分離菌株共に、20° で分解を示した株が最も多く、しかも 20 以上の分解を示したのも 20° で多かった。これらのことは、20° で陽性の株が必ずしも 5° でも陽性であるとはいえず、低温細菌群の至適発育温度付近における分解試験のみで、5~7° における分解能を評価できない場合もあることを示している。

脂肪分解試験では、2 種類の培地を用いたが、5 および 20° 分離菌株共に、バター脂肪分解陽性株数はトリブチリン分解陽性株数よりも多かった。この成績は、Dempster²¹⁾ の、乳由来株を用いての 25° 培養試験におけるバター脂肪分解株数に比べて、トリブチリン分解株数が多かったとする成績とは、逆であり、この相違は、それぞれが供試した菌株の Genus または Species の相違に由来したのかもしれない。なお著者らの試験において、5° 分離菌株は、トリブチリンに対しては 5° と 20° で陽性の株が最も多く、バター脂肪に対しては 3 種の温度で共に陽性の株が最も多かった。このように対象とする脂肪の種類によって、それらを分解するのに適した培養温度が若干異なったが、この理由は分からない。また 2 種

脂肪に対して、5 および 20° 分離菌株の陽性株数では共に 20° で最も多く、次に多いのは 5° 分離菌株では 5° で、20° 分離菌株では 35° であり、この点が 5° 分離菌株と 20° 分離菌株とで異なっていた。

笠井ら²³⁾は、乳由来脂肪分解菌では *Alcaligenes*, *Pseudomonas*, *Micrococcus* が多かったと報告し、また Schultze & Olson²⁰⁾は、乳由来低温性大腸菌群には脂肪分解株が多いと報告した。著者らの 5° 分離菌株の成績では、*Bacillus*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*—*Achromobacter*, および大腸菌群の 70% 以上が 2 種脂肪分解を示し、また *Pseudomonas* でも 70% 以上がバター脂肪分解を示した。2 種脂肪に対して、グラム陰性桿菌類は 20° のみならず 5° でも分解を示した。

なお脂肪分解試験において、クロスリー寒天培地は、5° 培養 2 日で全体に青色を呈し、陽性の判定を困難にした。したがって低温で脂肪分解試験を行うには、トリブチリン加培地が良いかもしれない。しかしトリブチリン分解陽性率は、同一の供試株でもバター脂肪分解陽性率よりも低くなっていることに留意せねばならない。

今回の試験において、特に *Pseudomonas* および大腸菌群では、タンパクまたは脂肪分解陽性株が比較的多く、またこれらは 5° でも分解を示した。これらのことから、乳および乳製品またはその他の食品類は、単に低温に保存されるのみでは、低温細菌によるタンパク分解または脂肪分解作用から免れることができず、特に保存期間が長いほど、それらの悪化の度を増すことは確かである。

要 約

生乳から 5°, 10 日および 20°, 4 日培養で分離した菌株、合計 1,380 株について、タンパク (脱脂乳) 分解能および脂肪 (トリブチリン, バター脂肪) 分解能を 5, 20, 35° 培養で検討し、次のような成績を得た。

1) 3 種培養温度を通してタンパク分解を示した株は、5° 分離菌株の 23.1% に、20° 分離菌株の 37.9% にみられた。Genus 別陽性率は、5° 分離菌株では *Bacillus*, 大腸菌群, *Pseudomonas* に、20° 分離菌株では *Pseudomonas*, *Alcaligenes*—*Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Streptococcus*, 大腸菌群、に高かった。

2) グラム陰性桿菌類では 5° と 20° で、または 20° 単独でタンパク分解陽性株が多く、グラム陽性桿菌類および球菌類では 20° と 35° で、または 20° 単独で分解した株が多かった。

3) 5° 分離菌株はトリブチリン分解陽性率 40.9%, バター脂肪分解陽性率 48.0%, 20° 分離菌株はそれぞれ 17.9% と 23.6% であり、いずれもバター脂肪分解陽性率が高かった。5° 分離菌株では *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*—*Achromobacter*, 非同定グラム陰性桿菌, 大腸菌群, *Pseudomonas* に、20° 分離菌株では

Acinetobacter, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Aeromonas*, 大腸菌群に脂肪分解株が多かった。

4) トリブチリンに対しては、グラム陰性桿菌類の多数株が 5° と 20° で、または 3 種の温度で共に、*Staphylococcus* の多数株が 20° と 35° で、陽性であったが、バター脂肪に対しては 3 種の温度で共に分解した株が多かった。

5) 5° 分離菌株では 20° でタンパク分解、脂肪分解の陽性株数が最も多く、次いで 5° で多く、特に脂肪分解株では 20°, 5° で陽性の株数がきわめて相接近していた。20° 分離菌株では 20° で陽性の株数が最も多く、35° で陽性の株数がこれに次いだ。

文 献

- 1) Thomas, S.B.: Dairy Sci. Abst., **20**, 355, 447 (1958).
- 2) Ingraham, J.L., Stokes, J.L.: Bacteriol. Rev., **23**, 97 (1959).
- 3) Witter, L.D.: J. Dairy Sci., **44**, 983 (1961).
- 4) Thomas, S.B.: Dairy Inds., **35**, 79, 147 (1970).
- 5) Thomas, S.B., Thomas, B.F.: *ibid.*, **38**, 61 (1973).
- 6) Olson, H.C.: J. Dairy Sci., **46**, 362 (1963).
- 7) Punch, J.D., Olson, J.C. Jr. Thomas, E.L.: *ibid.*, **48**, 1179 (1965).
- 8) Ohri, S.P., Slatyer, W.L.: J. Milk Food Technol., **29**, 88 (1966).
- 9) Orr, M.J., McLarty, R.M., Baines, S.: Dairy Inds., **30**, 278 (1965).
- 10) Overcast, W.W.: J. Dairy Sci., **51**, 1336 (1968).
- 11) Fryer, T.F., Lawrence, R.C., Reiter, B.: *ibid.*, **50**, 477 (1967).
- 12) 日越博信, 浜田輔一: 食衛誌, **17**, 27 (1976).
- 13) 日越博信, 浜田輔一: 同上, **17**, 34 (1976).
- 14) Marks, J.: J. Path. Bact., **64**, 175 (1952).
- 15) Nashif, S.A., Nelson, F.E.: J. Dairy Sci., **36**, 471 (1953).
- 16) Pinheiro, A. J. R., Liska, B. J., Parmelee, C.E.: *ibid.*, **48**, 983 (1965).
- 17) Thomas, S.B., Druce, R.G.: Dairy Inds., **34**, 430 (1969).
- 18) Clark, W. S. Jr., Reinbold, G. W.: J. Milk Food Technol., **30**, 54 (1967).
- 19) Thomas, S.B., Hobbson, P.M., Bird, E.R., King, K.P., Druce, R.G., Cox, D.R.: J. appl. Bact., **25**, 107 (1962).
- 20) Schultze, W. D., Olson, J. C. Jr.: J. Dairy Sci., **43**, 351 (1960).
- 21) Dempster, J. F.: J. appl. Bact., **31**, 290 (1968).
- 22) 笠井金盛, 大淵紀己子, 松井武夫, 神林三男: 食衛誌, **5**, 199 (1964).