生肉由来細菌の脂肪分解性とタンパク分解性について^{*1}

(昭和 57 年 7 月 15 日受理)

久保倉 洋子^{*2}

Lipolytic and Proteolytic Activities of Bacteria Isolated from Raw Meat

(Food-hygienic Studies on Bacteria in Raw Meat. III)

Yoko KUBOKURA

(Tokyo University of Agriculture and Technology: 5-8, Saiwai-cho 3-chome, Fuchu-shi, Tokyo, Japan)

An experiment was conducted to elucidate the food-hygienic significance of bacteria of raw meat; 1,056 bacterial strains isolated from refrigerated and frozen raw meat were examined for ability to decompose fat and protein. Some representative strains were also observed for growth characteristics at low temperature.

1) The ratio of lipolytic and proteolytic bacteria to those isolated varied to some extent with the temperature at which isolation was done, the kind of meat (i.e., beef, pork, or chicken meat), and the mode of storage (i.e., refrigerated or frozen meat).

2) When the isolated bacteria were analyzed by genus, more than 70% of bacteria belonging to *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, and *Pseudomonas* showed lipolytic activity, and nearly 80% of bacteria belonging to *Pseudomonas* showed proteolytic activity.

3) The isolated bacteria were analyzed for range of growth temperature to be divided into 7 groups. Each group was examined for the rates of lipolytic and proteolytic bacteria. The highest rate of lipolytic bacteria was obtained from the group growing in a range of 7-32°C. The highest rate of proteolytic bacteria was obtained from the group growing in a range of 7-25°C.

4) The rates of growth at 1 and 5°C were the highest in some of the coryneforms and *Pseudomonas* and rather low in *Lactobacillus* and *Micrococcus*. The growth rate was not parallel with the upper limit of the growth temperature in the bacterial strains examined.

(Received July 15, 1982)

Key words: 生肉細菌 bacteria isolated from raw meat; 脂肪分解菌 lipolytic bacteria; タンパク質分解菌 proteolytic bacteria; 低温発育特性 growth characteristics at low temperature

低温下で流通する畜産食品の変性は、多くの場合、低温細菌による脂肪やタンパク質の分解と関連して起こることが知られている^{1)~10)}。従って、生肉汚染細菌の食品衛生上の意義づけをする上で、これらの細菌の脂肪やタンパク質に対する活性を知ることは極めて有益である。又、生肉の変性が低温における細菌の増殖にともなって起こることから、汚染細菌の低温発育特性を知ることも重要な課題である。前報¹¹⁾では、生肉汚染細菌を発育温

度域によって群別し、各菌群の発現頻度と構成菌種を観察した。本報告では、生肉の汚染細菌について、脂肪、タンパク質分解能と、低温発育特性を観察するとともに、発育温度域で群別した菌群がこれらの3つの性状についてどのような特徴を示すかを整理した。

実験方法

1. 供試菌株

前報^{11), 12)}で牛、豚、鶏生肉から分離、同定した 1056 菌株の全部又は一部を用いた。

*1 生肉の細菌に関する食品衛生学的研究 (第3報)

*2 東京農工大学農学部：府中市幸町 3-5-8

Fig. 1. Incidence percentage of lipolytic strains of bacterial groups isolated from meat and classified on the basis of growth temperature

Fig. 2. Incidence percentage of lipolytic strains isolated from beef, pork, and chicken at different temperatures

2. 脂肪及びタンパク質の分解能

脂肪分解能は Crossley 培地 (栄研化学(株)) によって, 又, タンパク質分解能は Martely¹³⁾ のカゼイン加寒天培地によって, 20° 培養で 5 日目まで毎日観察した。

3. 低温発育特性及び至適発育温度の検討

前報¹¹⁾において発育温度域で群別した菌群のうち, 7° で発育した 5 菌群から代表菌株 (19 株) を選び供試した。低温発育特性の検討は, これらの菌株を接種したハートインフュージョンブイオンを, 1°, 5°, 10°, 25° に最高 3 週間保存し, ハートインフュージョン寒天培地で経時的に細菌数を測定した。得られたデータから, 保存温度別の世代時間を計算した。

至適発育温度は, 駒形¹⁴⁾らの方法に準拠して観察し

た。

ふらん器は前報¹²⁾と同一のものを使用した。

実験結果

1. 生肉由来細菌の脂肪分解能

Fig. 1 は, 発育温度域別に脂肪分解菌の出現比率を示したものである。脂肪分解菌の比率は全体的には 42.0% であったが, 7~32° 発育菌群の 54.1% を最大値とし, ここから上下に離れるにつれ漸次減少した。しかし, 25~37° 発育菌群では 49.1% であった。この成績は冷蔵, 冷凍肉別に整理してもほぼ同様であった。

Fig. 2 は分離菌の由来別 (肉種別, 分離温度別) にみた脂肪分解菌の出現比率である。これは, 培養温度別ではほとんど差がみられなかったが, 肉種別では鶏肉で若干低い傾向がみられた。

Fig. 3. Incidence percentage of lipolytic strains isolated from meat and classified into types

Fig. 4. Incidence percentage of proteolytic strains of bacterial groups isolated from meat and classified on the basis of growth temperature

Fig. 3 は脂肪分解菌の比率を菌種別に示したものである。最も高いのは *Alcaligenes* (AG) の 95.2% であった。次いで *Acinetobacter* (AB) の 79.1%, *Pseudomonas* (PM) の 70.5%, yeast の 64.3%, *Micrococcus* (MC) の 59.6% であった。Coryneforms (CF) 及び *Lactobacillus* (LB) では 29.5% と 9.7% であった。この成績は冷蔵、冷凍肉別にみてもほとんど変らなかった。

又、これらの菌種のうち、分離頻度の最も高かった CF (前報¹¹⁾ Fig. 2) 424 株を发育温度域で群別して、それらの脂肪分解菌の比率をみた結果は、Fig. 1 と極めてよく類似していた。

2. 生肉由来細菌のタンパク質分解能

Fig. 4 に发育温度域別にタンパク質分解菌の出現比率を示した。分解菌の比率は、全体的には 23.1%、最も高いものは 7~25° 发育菌群の 35.6% で、脂肪分解菌の場合に比べると、分解菌の比率及び各菌群への分布はかなり異なっていた。これを冷蔵、冷凍肉別に整理すると、分解菌の比率は冷蔵の 7~32° (35.3%), 7~37° (35.3%), 及び冷凍の 25~37° 发育菌群 (32.3%) で高く、冷凍の 7~32° (4.8%), 7~37° (2.3%), 及び冷蔵の 25~37° 发育菌群 (8.5%) で低かった。

Fig. 5 には、菌株の由来別 (肉種別、分離温度別) にタンパク質分解菌の比率を示した。この比率は、牛、豚

Fig. 5. Incidence percentage of proteolytic strains isolated from beef, pork, and chicken at different temperatures

Fig. 6. Incidence percentage of proteolytic strains isolated from meat and classified into types

肉では培養温度が低い時ほど、又、鶏肉では 25° 培養で高かった。

Fig. 6 はタンパク質分解菌の比率を菌種別に示したものである。分解菌の比率が最も高いのは PM の 79.6%，最も低いのは LB の 2.5% であった。又、yeast は 56.0%，AG、AB 及び *Flavobacterium* (FB) はいずれも 40% 程度、CF は 7.5% であった。これを由来（冷蔵、冷凍肉）別に比較すると、冷蔵の場合、PM の 93.3%，AG の 83.3% がタンパク質分解性であったのに対し、冷凍の場合は、それぞれ 22.2% と 14.3%

であった。

3. 生肉由来細菌の低温発育特性と至適発育温度

Table 1 は、7° で発育する菌株の低温発育特性と至適発育温度を示したものである。

供試菌株はすべて 5° で発育したが、5° における世代時間と 1° における発育性は、供試菌株の発育温度域よりむしろ、菌種の違いによって大きく異なった。これに対し、至適発育温度は、発育温度域の上限とほぼ平行して上下した。すなわち、CF と PM の多くは、それらの発育温度域に関係なく、5° における世代時間が比

Table 1. Growth Temperature Characteristics of Representative Organisms Isolated from Meat.

Strain No.	Organism	Generation time in hours at				Optimum growth temperature (°C)	Growth temperature range (°C)
		1°C	5°C	10°C	25°C		
1	<i>Pseudomonas</i>	13.4	5.8	2.6	1.7	20	7~25
2	<i>Acinetobacter</i>	NG	7.6	4.6	1.5	20	
3	<i>Flavobacterium</i>	NG	18.0	8.9	1.9	20	
4	"	NG	15.9	7.5	1.6	20	
5	<i>Lactobacillus</i>	26.7	9.5	3.6	1.4	15	
6	"	20.5	10.0	3.9	1.4	15	
7	Coryneforms	12.7	5.0	2.6	1.2	20	
8	<i>Acinetobacter</i>	NG	10.3	4.9	1.3	20	7~30
9	Coryneforms	14.2	6.7	3.7	1.3	20	
10	"	19.2	7.4	3.7	1.2	25	
11	<i>Pseudomonas</i>	NG	21.8	9.2	2.4	25	7~32
12	"	11.8	5.4	2.8	1.2	25	
13	Coryneforms	NG	16.1	8.1	2.5	20	
14	<i>Pseudomonas</i>	15.0	6.3	3.8	1.2	30	7~35
15	<i>Acinetobacter</i>	NG	12.3	5.3	1.2	30	
16	<i>Enterobacteriaceae</i>	18.1	7.9	4.4	1.0	25	
17	<i>Pseudomonas</i>	12.9	4.6	3.1	1.3	25	7~37
18	<i>Lactobacillus</i>	NG	12.5	4.9	1.2	25	
19	<i>Micrococcus</i>	NG	25.3	11.1	2.9	32	

NG, no growth

較的短かく、又 1° でも比較的速く発育した。これに対し、FB, AB, MC は 5° における世代時間が比較的長く 1° では発育しなかった。LB 及び *Enterobacteriaceae* (EB) は、1° で発育したが世代時間は比較的長く、上記 2 群の中間の成績を示した。

至適発育温度が最も低かったのは 7~25° 発育菌群の LB 2 株でいずれも 15° であった。

考 察

細菌による脂肪及びタンパク質の分解については、牛乳の低温細菌に関連して多くの研究^{1), 2), 5)~7), 9), 10), 15)~17)}があり、又優れた測定方法^{13), 18)}が確立されている。

元来、乳脂肪や乳タンパク質の分解性をみる目的で開発されたこれらの方法を、肉の場合にあてはめることの妥当性に疑問がないわけではない。しかし、他に適当な方法を得られないため、本研究ではこれらの方法を使用した。

脂肪分解菌の比率は全供試菌株の 42.0% で、小久保⁴⁾が冷凍豚肉で報告した成績 (40%) と近似していた。この比率は、供試細菌の菌種の差によって著しく異なり、PM, AG, AB で 70% 以上、CF で 29.5% であった。しかし、CF は全細菌叢に占める比率が極めて高いことを考え合わせると、食肉衛生上の意義は極めて高いものと考えられる。

脂肪分解菌の比率は、細菌の発育温度域の差によってそれほど大きく変らなかった。しかし、全菌種についてみても、又、CF だけについてみても、7~32° 発育菌群でその比率が最も高く、かつ、7~25° 及び 7~30° 発育菌群にもかなりの比率で分解菌がみられた。このことからしても、生肉の生菌数測定に 35° 培養法を用いることは好ましくない。

タンパク質分解菌の比率は、全供試菌株の 23.1% であった。これは、新鮮豚肉³⁾ 及び鶏肉¹⁰⁾ 分離菌についての報告と近似していたが、冷凍豚肉分離菌⁴⁾ の場合に比べると著しく低かった。

この比率は菌種の違いによって著しく異なり、PM では 79.6%。AG, AB, FB ではいずれも 40% 前後、CF では 7.5% であった。しかし、この成績は菌株の由来 (冷蔵、冷凍肉) によって大きく異なり、冷蔵肉から分離した PM は 93.3% がタンパク質分解性であったのに対し、冷凍肉から分離した PM では 22.2% に過ぎなかった。これまでに、PM のタンパク質分解性が、菌株の由来によって著しく異なる例が報告されてお^{3), 4)}、このようなことがどうして起こるかに興味がもたれる。Yeast は、PM に次いでタンパク質分解性のものが多く、かつ、脂肪分解性のものも多かった。このことから yeast は、今後食肉の変性微生物として重視する必要

があるように思われる。

タンパク質分解菌の比率は、一般に分離培養温度が低い菌株ほど、又、発育温度域の上限が低い菌株ほど高い傾向を示した。この点からみても、培養操作時における温度感作の重要性がうかがわれる。

分離菌の低温発育性は、発育温度域の上限（最高発育温度）の高低とはあまり関係なく、むしろ菌種別に特徴づけられた。すなわち、PM 及び CF の多くは、それらの発育温度域とは関係なく 1° 及び 5° で比較的速く増殖した。これまでの報告例^{20)~22)}をみても、PM 及び CF の 1~5° における世代時間は比較的短かい。従って、PM 及び CF は、その低温発育特性、脂肪、タンパク質分解能、及び細菌叢の占有率¹¹⁾からみて、最も重要な生肉の汚染菌種と言えよう。

LB のなかには、その至適発育温度及び最高発育温度からみて、いわゆる偏性低温細菌に近い性状を示す菌株がみられた¹¹⁾。しかし、1° や 5° における LB の発育速度は、今回の研究結果や他の報告例²³⁾をみても比較的遅く、又、脂肪、タンパク質の分解性の点でも、LB の意義はそれほど重要とは思われなかった。しかし、LB は包装生肉や包装肉製品の中では他のいずれの菌属よりも優占するといわれており^{24)~28)}、又、食肉の変質に関与する場合^{29)~31)}と他の変質菌の発育を抑制する場合^{28), 32)}とが報告されている。今後、この面での研究が進み、もし LB を食品の変質菌の発育抑制に応用し得ることが判明すれば、LB には PM や CF とは違った形で意義が期待できる可能性もあり得よう。

稿を終るに当たり、本研究について懇切なご指導と論文のご校閲を賜った北里大学衛生学部藤本 進、阿部芳雄、松井清治教授、並びに終始ご指導とご鞭撻を賜った東京農工大学農学部小川益男教授の各位に心から感謝の意を表します。

文 献

- Greene, V. W., Jezeski, J. J.: Appl. Microbiol. **2**, 110~117 (1954).
- Hammer, B. W., Collins, M. A.: Iowa Agr. Expt. Sta. Research Bull. **169**, 73~92 (1934).
- 小久保弥太郎, 梅木富士郎, 春田三佐夫: 食衛誌. **12**, 164~169 (1971).
- 小久保弥太郎: 東獣畜誌. **19, 20** 合併号, 184~190 (1973).
- 小川益男: 東京農工大学農学部学術報告第 11 号 (1968).
- Overcast, W. W., Skean, J. D.: J. Dairy Sci. **2**, 1479~1485 (1959).
- Schultze, W. D., Olson, J. C., Jr.: *ibid.* **43**, 351~357 (1960).
- Sulzbacher, W. L.: Food Technol. **4**, 386~390 (1950).
- Thomas, S. B., Druce, R. G.: Dairy Eng. **80**, 378~381 (1963).
- Witter, L. D.: J. Dairy Sci. **44**, 983~1015 (1961).
- 久保倉洋子: 食衛誌. **24**, 14~20 (1983).
- 久保倉洋子: 同上. **24**, 7~13 (1983).
- Martley, F. G., Jayashankar, S. R., Lawrence, R. C.: J. Appl. Bact. **33**, 363~370 (1970).
- 駒形和夫, 小川博望: 食衛誌. **7**, 234~238 (1966).
- 日越博信, 浜田輔一: 同上. **17**, 41~47 (1976).
- Watrous, G. H., Doan, F. J., Jr. Josephson, D. V.: Pennsylvania Agr. Exp. Sta. Bull. **551**, 1~17 (1952).
- 矢野信礼, 森地敏樹: 畜試研報. **28**, 47~56 (1974).
- 上田貞義, 石塚 巖, 春田三佐夫, 梅木富士郎: モダンメディア **15**, 363~368 (1969).
- Lahellec, C., Meurier, C., Bennejean, G., Catsaras, M.: J. Appl. Bact. **38**, 89~97 (1975).
- Brownlie, L. E.: *ibid.* **29**, 447~454 (1966).
- Gill, C. O., Newton, K. G.: *ibid.* **43**, 189~195 (1977).
- 小久保弥太郎: 食衛誌. **15**, 188~194 (1974).
- 大高文男, 井坂正勝, 永山精美, 清水 潮, 加藤博: 日畜会報. **46**, 515~521 (1975).
- Beebe, S. D., Vanderzant, C., Hanna, M. O., Carpenter, Z. L., Smith, G. C.: J. Milk Food Technol. **39**, 600~605 (1976).
- Christopher, F. M., Seideman, S. C., Carpenter, Z. L., Smith, G. C., Vanderzant, C.: J. Food Prot. **42**, 240~244 (1979).
- Christopher, F. M., Vanderzant, C., Carpenter, Z. L., Smith, G. C.: *ibid.* **42**, 323~327 (1979).
- Nakano, M., Kubokura, Y., Ogawa, M.: J. Food Hyg. Soc. Japan **21**, 260~265 (1980).
- Newton, K. G., Gill, C. O.: J. Appl. Bact. **44**, 91~95 (1978).
- Patterson, J. T., Gibbs, P. A.: *ibid.* **43**, 25~38 (1977).
- Sutherland, J. P., Patterson, J. T., Murray, J. G.: *ibid.* **39**, 227~237 (1975).
- 小沢総一郎, 矢野幸男, 高坂和久, 清水 潮, 金子恵美子: 日畜会報. **45**, 327~333 (1974).
- Roth, L. A., Clark, D. S.: Can. J. Microbiol., **21**, 629~632 (1975).