市販冷蔵そう菜類・鮮魚介類から分離した低温酵母の タンパク及び脂肪分解能

(昭和 57 年 1 月 27 日受理)

小 畠 満 子* 倉 田 浩*

Proteolytic and Lipolytic Activities of Psychrophilic and Psychrotrophic Yeasts Isolated from Chilled Household Foods and Raw Seafoods

Michiko KOBATAKE and Hiroshi KURATA

(National Institute of Hygienic Sciences: 18-1,
Kamiyoga 1-chome, Setagaya-ku, Tokyo)

Proteolytic and lipolytic activities of 2 psychrophilic yeast species and 31 psychrotrophic yeast species isolated from 5 kinds of chilled foods, such as potato or macaroni salad, Chinese dumplings and raw seafoods (sea urchin roe, sliced tuna, hen clam feet), were investigated under various incubation conditions. Proteolytic activity was determined by use of YM agar plus 1% skim milk. Lipolytic activity was determined by use of butterfat in Crossley's agar and beef fat in Gorodkova agar (Eijkman's method). These 3 kinds of agar plates were incubated for 2 weeks at 5, 15 and 25°C, respectively.

The yeasts which demonstrated proteolytic activity under the conditions of incubation for one week at 5, 15 and 25°C, respectively, were 21.2, 18.2 and 15.2% of the 33 species of yeasts tested. The yeasts which demonstrated lipolytic (butterfat) activity under the same conditions of incubation amounted to 30.3, 60.6 and 54.5% of the total, respectively. It was generally found that lipolytic activity was higher than proteolytic activity.

Proteolytic and/or lipolytic yeast species were widely distributed among the genera *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Leucosporidium*, *Rhodotorula*, and *Trichosporon*. *Candida sake*, *C. guilliermondii*, *C. lambica* and *C. solani* exhibited proteolytic activity when incubated at 5°C within one week. *Candida parapsilosis*, *C. santamariae* and *C. zeylanoides* showed lipolytic activity under the incubation condition. *Leucosporidium gelidum*, *Candida lipolytica* and *Trichosporon pullulans* showed both proteolytic and lipolytic activities at 5°C within 4 days. Strain U₁, a yeastlike organism resembling *Aureobasidium pullulans* showed both activities at 15°C within 2 days, and *Rhodotorula aurantiaca*, *Rh. graminis* and *Trichosporon cutaneum* showed both activities at 15°C within 2 weeks.

(Received January 27, 1982)

Key words: タンパク分解能 proteolytic activity; 脂肪分解能 lipolytic activity; 真正低温酵母 psychrophilic yeasts; 低温酵母 psychrotrophic yeasts, 冷蔵そう菜類 chilled household foods; 冷蔵鮮魚介類 chilled raw seafoods

緒 言

先に著者らは市販冷蔵そう菜類¹⁾及び鮮魚介類²⁾の微生物汚染調査を行った結果、これらの食品は細菌、酵母、糸状菌によってかなり汚染されており、酵母は細菌に次

ぐ微生物群であること、また分離酵母の 93% 以上が低温酵母であることなどを報告した。

シロップ類、果汁類、果実類、漬物類、乳肉製品など各種食品の酵母による変敗及び腐敗例は、Ingram³⁾, Phaff⁴⁾ ら、Walker⁵⁾, Walker⁶⁾ ら、中瀬⁷⁾などによっ

* 国立衛生試験所：東京都世田谷区上用賀 1-18-1

Table 1. Temperature Ranges of Growth for 33 Yeast Species Isolated from Chilled Household Foods and Raw Seafoods

Species	Strain number	Temperature range
<i>Leucosporidium gelidum</i> *	SC-18-P-4	_____
<i>Cryptococcus infirmo-miniatu</i> s*	SC-16-P-1	_____
<i>Candida humicola</i>	M-6-P-6	_____
<i>Candida sake</i>	SC-20-P-7	_____
<i>Candida santamariae</i>	G-19-P-3	_____
<i>Cryptococcus albidus</i>	U-14-P-1	_____
<i>Cryptococcus macerans</i>	UC-18-P-5	_____
<i>Rhodotorula aurantiaca</i>	U-16-P-6	_____
<i>Trichosporon penicillatum</i>	S-14-P-6	_____
<i>Trichosporon pullulans</i>	UC-11-P-1	_____
<i>Candida beechii</i>	UC-11-P-6	_____
<i>Candida lipolytica</i>	M-20-P-5	_____
<i>Candida solani</i>	MC-14-Y-1	_____
<i>Candida zeylanoides</i>	M-13-P-4	_____
<i>Debaryomyces hansenii</i>	AC-1-P-2	_____
<i>Kloeckera apiculata</i>	S-15-P-6	_____
<i>Rhodotorula glutinis</i>	MC-2-P-1	_____
<i>Rhodotorula graminis</i>	M-5-P-2	_____
<i>Rhodotorula minuta</i>	GC-4-P-1	_____
<i>Rhodotorula pallida</i>	MC-9-Y-3	_____
<i>Trichosporon variabile</i>	M-3-P-1	_____
<i>Candida guilliermondii</i>	M-10-P-3	_____
<i>Candida intermedia</i>	S-5-P-4	_____
<i>Candida lambica</i>	S-15-P-1	_____
<i>Candida membranaefaciens</i>	A-6-P-7	_____
<i>Candida parapsilosis</i>	S-14-P-7	_____
<i>Candida pelliculosa</i>	S-16-P-6	_____
<i>Candida valida</i>	S-4-P-7	_____
<i>Cryptococcus laurentii</i>	U-1-P-9	_____
<i>Rhodotorula rubra</i>	U-1-P-6	_____
<i>Torulopsis candida</i>	U-2-P-3	_____
<i>Torulopsis magnoliae</i>	G-14-P-1	_____
<i>Trichosporon cutaneum</i>	S-4-P-6	_____
		0 5 10 15 20 25 30 37 (°C)

* *Leucosporidium gelidum* and *Cryptococcus infirmo-miniatu*s, isolated from the potato salad, are psychrophilic yeasts. The following abbreviations are used for names of yeast genera: *Candida*, C.; *Cryptococcus*, Cr.; *Debaryomyces*, Deb.; *Kloeckera*, Kl.; *Leucosporidium*, Leu.; *Rhodotorula*, Rh.; *Torulopsis*, T.; *Trichosporon*, Tr.

て述べられている。そう菜類関係では、サラダに用いるマヨネーズやドレッシング類の *Zygosaccharomyces*, *Saccharomyces*^{8),9)} による変敗例, また鮮魚介類関係では生ガキの赤色酵母¹⁰⁾ による腐敗例などがみられる。このように酵母による食品の変敗及び腐敗例はあるが, 腐敗との関連においてタンパク, 脂肪分解能を検討した報告は極めて少ない。

そこで, 著者らは食品衛生学的な観点から酵母による食品の腐敗に関する問題を究明する目的で, 今回は市販

冷蔵そう菜類, 鮮魚介類から分離した低温酵母のタンパク, 脂肪分解能試験を行った。8属33菌種の低温酵母をそれぞれ3種類の培地に接種し, 5°, 15°, 25° の各培養温度で2週間培養し, 得られた成績を前報の微生物汚染調査結果及び生態学的研究成果と対応させながら論議した。

実験方法

1. 供試菌株

市販冷蔵そう菜類¹⁾ 及び鮮魚介類²⁾ から分離した, 5°

Table 2. Proteolytic Activities of Psychrophilic and Psychrotrophic Yeasts Isolated from Chilled Household Foods and Raw Seafoods

Species	Incubation																	
	5°C						15°C						25°C					
	1	2	3	4	7	14	1	2	3	4	7	14	1	2	3	4	7	14
	(Days)						(Days)						(Days)					
<i>C. lipolytica</i> , <i>Tr. pullulans</i>	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Leu. gelidum</i> *	—	—	—	+	+	+	—	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
<i>C. sake</i>	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	+	+	—	—	+	+	+	+
<i>C. guilliermondii</i>	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	+
<i>Kl. apiculata</i>	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	+	+
<i>C. lambica</i> , <i>C. solani</i>	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
<i>Rh. aurantiaca</i> , <i>Rh. graminis</i> , <i>Tr. cutaneum</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	+
<i>C. humicola</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
<i>Deb. hansenii</i> , <i>Cr. macerans</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
19 species	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0	2	2	3	7	8	2	3	3	3	6	9	2	2	3	3	5	11
	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33 ^{a)}
	0%	6.1%	6.1%	9.1%	21.2%	24.2%	6.1%	9.1%	9.1%	9.1%	18.2%	27.3%	6.1%	6.1%	9.1%	9.1%	15.2%	33.3%

a) =Number of yeast species yielding positive test per 33 yeast species tested

+ =Weak, moderate or abundant hydrolysis; — =no hydrolysis

* =Psychrophilic yeast

で2週間以内に生育することのできる低温酵母, 8属33菌種33菌株を供試菌株とした (Table 1). 供試菌株は15°, 2日間の前培養を行った後試験に供した. なお, 供試菌株の同定については別に報告¹¹⁾した.

2. 生育温度試験

供試菌株の生育温度範囲を決めるため, 供試菌株をYM 寒天^{12), 13)}斜面に接種し, 0° 又は 5° で2週間, 及び 10°, 15°, 20°, 25°, 30°, 37° でそれぞれ1週間培養し, 生育状態を観察した.

3. タンパク分解能試験

10% 脱脂乳 (Difco) 液を10% の割合に加えたYM 寒天培地を用いた. この寒天平板に供試酵母を画線培養し, 集落の周囲に透明帯ができたものを強弱の程度を問わず+, 陰性のものを—と記載した. 分解能は, 5°, 15°, 25° の各培養温度別に日を追って観察した.

4. 脂肪分解能試験

i) クロスリー寒天培地 (栄研化学 (株) 製) を用いた. この寒天平板に供試酵母を画線培養し, 集落及びその周囲が青色となったものを色の濃淡を問わず+, 陰性のものを—と記載した.

ii) 油脂分解性酵母同定用培地^{13), 14)}を用いた.

この寒天平板に供試酵母を画線培養し, 集落の周囲又は下部に不溶性の脂肪酸のカルシウム塩が白亜帯状に生

成されたものを強弱の程度を問わず+, 陰性のものを—と記載した. 脂肪分解能試験 i), ii) の培養条件は, タンパク分解能試験の場合と同様であった.

実験結果

1. 生育温度範囲の検討

供試菌株の生育温度範囲を Table 1 に示した. *Leucosporidium gelidum* と *Cryptococcus infirmo-minia-tus* は, 生育温度範囲が 0° から 20°, 至適生育温度が 15° 近辺にある psychrophilic yeasts^{15), 16)} であった. この他の 31 菌種は psychrotrophic yeasts^{15), 16)} (後述) であった.

2. タンパク分解能

5°, 15°, 25° 培養におけるタンパク (カゼイン) 分解能試験の成績を Table 2 に示した.

タンパク分解能陽性率は, 5°, 15°, 25° 培養の7日目, それぞれ 21.2% (7 菌種/供試33菌種), 18.2%, 15.2%, 14 日目, それぞれ 24.2%, 27.3%, 33.3% であった.

15° 培養の14日以内にタンパク分解能を示した酵母は, *Candida guilliermondii*, *C. lipolytica*, *C. sake*, *Kloeckera apiculata*, *Leu. gelidum*, *Rhodotorula aurantiaca*, *Rh. graminis*, *Trichosporon cutaneum*, *Tr. pullulans* の9 菌種 (27.3%) であった. 先に調

Table 3. Lipolytic Activities of Psychrophilic and Psychrotrophic Yeasts Isolated from Chilled Household Foods and Raw Seafoods

Species		Incubation																		
		5°C						15°C						25°C						
		1	2	3	4	7	14	1	2	3	4	7	14	1	2	3	4	7	14	
		(Days)						(Days)						(Days)						
Butterfat	<i>C. lipolytica</i> , <i>C. parapsilosis</i>	}		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	<i>C. santamariae</i> , <i>C. valida</i> ,																			
	<i>Cr. laurentii</i> , <i>Tr. pullulans</i>																			
	<i>Leu. gelidum</i> *	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
	<i>C. zeylanoides</i>	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>Rh. graminis</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>Rh. aurantiaca</i> , <i>Tr. cutaneum</i>	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>C. pelliculosa</i>	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
	<i>C. intermedia</i> , <i>Ded. hansenii</i> ,	}		-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
	<i>Tr. penicillatum</i>																			
	<i>Cr. infirmo-miniatus</i> *	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	<i>C. sake</i>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	<i>C. humicola</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
<i>C. membranaefaciens</i> , <i>Tr. variabile</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	
<i>C. guilliermondii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	
<i>Cr. albidus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	
11 species	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		6	7	8	8	10	15	8	12	15	15	20	22	10	14	14	15	18	18 _{a)}	
		33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	
		18.2%	21.2%	24.2%	24.2%	30.3%	45.5%	24.2%	36.4%	45.5%	45.5%	60.6%	66.7%	30.3%	42.4%	42.4%	45.5%	54.5%	54.5%	
Beef fat	<i>C. lipolytica</i> , <i>Tr. pullulans</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	<i>Leu. gelidum</i> *	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
	<i>Tr. cutaneum</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	
	<i>C. parapsilosis</i> , <i>C. santamariae</i>	}		-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	
	<i>Rh. graminis</i>																			
	<i>Rh. aurantiaca</i>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	
	<i>C. zeylanoides</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	
	<i>Cr. infirmo-miniatus</i> *	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	
	<i>C. pelliculosa</i> , <i>C. valida</i> ,	}		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	
	<i>Tr. penicillatum</i>																			
	<i>C. humicola</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	
	<i>Cr. laurentii</i> , <i>Deb. hansenii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	
	17 species	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	2	2	2	4	10	2	3	4	7	8	16	2	2	7	10	12	12 _{a)}	
		33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	
		6.1%	6.1%	6.1%	6.1%	12.1%	30.3%	6.1%	9.1%	12.1%	21.2%	24.2%	48.5%	6.1%	6.1%	21.2%	30.3%	36.4%	36.4%	

a) = Number of yeast species yielding positive test per 33 yeast species tested

+ = Weak, moderate or abundant hydrolysis; - = no hydrolysis

* = Psychrophilic yeasts

査^{1),2)}した試料のなかには、試料採取時の保管温度が15°前後で、保管日数も4日に達する試料が認められた。これらを考慮した条件、すなわち15°培養の4日以内にタンパク分解能を示した酵母は、*C. lipolytica*, *Tr. pullulans*, *Leu. gelidum* の3菌種(9.1%)であった。この3菌種は、5°培養の場合でも4日以内に陽性反応を示した。

3. 脂肪分解能

5°, 15°, 25° 培養における脂肪(バター及び牛脂)分解能試験の成績を Table 3 に示した。

バター脂肪分解能陽性率は、5°, 15°, 25° 培養の4日目、それぞれ24.2% (8菌種/供試33菌種)、45.5%、45.5%、7日目、それぞれ30.3%、60.6%、54.5%であった。牛脂肪分解能陽性率は、5°, 15°, 25° 培養の4日目、それぞれ6.1%、21.2%、30.3%、7日目、それぞれ12.1%、24.2%、36.4%であり、バター脂肪分解能陽性率よりは全般的に低い値を示していた。

15° 培養の4日以内に脂肪(バター)分解能を示した酵母は、*Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Leucosporidium*, *Rhodotorula*, *Trichosporon* の6属14菌種(42.4%)であり、5° 培養の4日以内に同分解能を示した酵母は、*C. lipolytica*, *C. parapsilosis*, *C. santamariae*, *C. valida*, *C. zeylanoides*, *Cryptococcus laurentii*, *Tr. pullulans*, *Leu. gelidum* の4属8菌種(24.2%)であった。

4. タンパク及び脂肪分解能陽性酵母の分布

タンパク分解能陽性酵母(以下……分解酵母と略記)、脂肪分解酵母、及びタンパク・脂肪両分解酵母の5種冷蔵食品における分布状況を Table 4 に示した。●印は15° 培養の4日以内に、また◎印は15° 培養の14日以内に分解能を示したものである。以下、Genus 別に述べる。

Candida 属による分解能

Candida 属 14 菌種のうち *Candida beechii* を除く13菌種に分解能が認められた。*C. lambica*, *C. solani* (◎印) はタンパク分解菌種;*C. humicola*, *C. membranaefaciens* (◎印) 及び *C. intermedia*, *C. parapsilosis*, *C. pelliculosa*, *C. santamariae*, *C. valida*, *C. zeylanoides* (●印) は脂肪分解菌種;*C. guilliermondii*, *C. sake* (◎印) 及び *C. lipolytica* (●印) はタンパク・脂肪両分解菌種であった。なかでも *C. lipolytica* は低温(5°)で、速やかな(24~72時間)分解能を示し、しかも検出頻度の高い菌種であった。

Cryptococcus 属による分解能

Cryptococcus 属 4 菌種のうち *Cryptococcus albidus* (◎印) 及び *Cr. laurentii*, *Cr. infirmo-miniatus* (●印) は脂肪分解菌種であった。

Debaryomyces 属による分解能

5種類の冷蔵食品に広く分布していた *Debaryomyces*

hansenii は脂肪分解菌種であったが、その分解能は強いものではなかった。

Leucosporidium 属による分解能

ポテトサラダから分離された psychrophile である *Leu. gelidum* は、5°, 4日培養でタンパク・脂肪両分解能を示した。本菌にこのような分解能があることは著者らがはじめて報告する。

Rhodotorula 属による分解能

Rhodotorula 属 6 菌種のうち *Rhodotorula aurantiaca* と *Rh. graminis* は、タンパク・脂肪両分解菌種であった。分離頻度の高い *Rh. rubra* の分解能は陰性であった。

Trichosporon 属による分解能

Trichosporon 属 4 菌種のうち *Trichosporon penicillatum* (●印) と *Tr. variabile* (◎印) は脂肪分解菌種であった。5種類の冷蔵食品から高頻度に検出された *Tr. cutaneum* と *Tr. pullulans* は、タンパク・脂肪両分解菌種であったが、特に後者の分解能は強く、5° 3日培養で陽性反応を示した。

Aureobasidium pullulans 類似の菌株による分解能

鮮魚介類から頻繁に分離された *U₁* 株は、*A. pullulans* 類似の菌株であった。15° 培養の2日以内にタンパク・脂肪両分解能を示した。

考 察

1892年に Forster¹⁷⁾ が、0° 又はそれ以下で生育することのできる細菌に Glaciale Bakterien という名称を与えて以来、低温で生育することのできる微生物は psychrophile¹⁸⁾, psychrotolerant¹⁹⁾, Cryophile²⁰⁾, facultative or obligate psychrophile²¹⁾ などいろいろな名称で呼ばれてきたが、この間に用語使用上の混乱が生じた。この混乱を收拾するため Eddy¹⁵⁾ は 1960 年に、‘psychrotrophic’ と ‘psychrophilic’ という2種類の用語を用いることを提唱し、これらの定義づけを行った。すなわち、‘psychrotrophic’ は、生育の至適温度とは関係なく、任意の実験期間内に、約 5° 又はそれ以下で、固形培地上に生育することのできる能力を持っていることを意味し、‘psychrophilic’ は、低い至適温度を持つ時にのみ使われることを意味するとした。その後、1975年に Morita¹⁶⁾ は、“psychrophile” と “psychrotrophic” にそれぞれ次のような定義を与えることを提唱した。すなわち、“psychrophile” とは、至適生育温度が約 15° 又はそれ以下、最高生育温度が約 20°、最低生育温度が 0° 又はそれ以下にある微生物であり、この定義に合致しない微生物で、低温において生育するものに対して “psychrotrophic” という用語を用いるとした。これらのことから現在では、低温に生育する微生物は通常 psychrophile もしくは psychrotroph のいずれかに分類される。両者の定義に合わせて考えると、サラダから分離された *Leu. gelidum* と *Cr. infirmo-miniatus* は

Table 4. Distribution of Proteolytic and Lipolytic Yeasts Found in 5 Kinds of Chilled Foods

Species	Proteolysis	Lipolysis (butterfat)	Salad	Gyōza	Sea urchin roe	Sliced raw tuna	Hen clam feet
<i>C. beechii</i>					○		
<i>C. guilliermondii</i>	●	●	○	○		○	
<i>C. humicola</i>		●			○	○	○
<i>C. intermedia</i>		●	○				
<i>C. lambica</i>	●		○				
<i>C. lipolytica</i>	●	●	○	○	○	○	○
<i>C. membranaefaciens</i>		●				○	○
<i>C. parapsilosis</i>		●	○				○
<i>C. pelliculosa</i>		●	○				
<i>C. sake</i>	●	●	○	○	○		
<i>C. santamariae</i>		●	○	○			
<i>C. solani</i>	●					○	
<i>C. valida</i>		●	○				
<i>C. zeylanoides</i>		●	○	○		○	
<i>Cr. albidus</i>		●	○	○	○	○	
<i>Cr. infirmo-miniatus*</i>		●	○	○		○	
<i>Cr. laurentii</i>		●	○		○	○	○
<i>Cr. macerans</i>					○		
<i>Deb. hansenii</i>		●	○	○	○	○	○
<i>Kl. apiculata</i>	●		○				
<i>Leu. gelidum*</i>	●	●	○				
<i>Rh. aurantiaca</i>	●	●			○		
<i>Rh. glutinis</i>			○		○	○	○
<i>Rh. graminis</i>	●	●				○	
<i>Rh. minuta</i>			○	○			
<i>Rh. pallida</i>						○	
<i>Rh. rubra</i>			○	○	○	○	○
<i>T. candida</i>					○		
<i>T. magnoliae</i>				○			
<i>Tr. cutanem</i>	●	●	○	○	○	○	○
<i>Tr. penicillatum</i>		●	○				
<i>Tr. pullulans</i>	●	●	○	○	○	○	○
<i>Tr. variabile</i>		●				○	
Strain U ₁ **	●	●			○	○	○

●=Activity at 15°C within 4 days

●=Activity at 15°C within 14 days

○=Origin of the yeast species

*=Psychrophilic yeasts

**=Yeastlike organism resembling *Aureobasidium pullulans*

psychrophilic yeasts に、また残りの 31 菌種は psychrotrophic yeasts に分類されるものと考える。

一方、酵母のなかには、糖類を発酵してアルコールを産生する菌種が多い。このため、一般的にタンパク分解性であるよりは、むしろ炭水化物分解性であると言われている。しかし、酵母のタンパク分解能に関しては、これまでに次のような報告がある。すなわち、Dungeness crab meat (小型食用がにの肉) から分離された *Trichosporon* sp. の菌体内プロテアーゼ (Groninger ら)²²⁾、トラピストチーズから分離された *Trichosporon* sp. の菌体内プロテアーゼ (Vorbeck ら)²³⁾、*C. lipolytica* の菌体外プロテアーゼ (Mitsugi ら)²⁴⁾、また *Saccharomyces cerevisiae* のプロテアーゼ (Lenney)²⁵⁾ などについての酵素学的な研究が見られる。Nissen²⁶⁾ は、*Rhodotorula* spp. が発酵乳製品のカゼインを分解したこと、また Eklund²⁷⁾ らはかに肉由来の酵母が、カゼイン、ゼラチン、かに肉タンパクを分解したことなどを報告している。著者らも今回の実験によって 7 属 11 菌種の酵母が、カゼイン分解能を示す結果を得た。酵母の脂肪分解能については、以前から *Tr. pullulans*, *C. lipolytica* などでよく知られており、*C. lipolytica* が典型的な 1,3-加水分解性酵素^{28), 29)}を産生することも報告されている。

先に試験した^{1), 2)} 試料のなかには、15° 近辺で保管されていたものがかなりあったので著者らは、15° 培養におけるタンパク、脂肪分解能試験を行った。15° 培養の 4 日以内にタンパク及び脂肪分解能を示した酵母は *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Leucosporidium*, *Rhodotorula*, *Trichosporon* の 6 属 14 菌種 (42.4%) に及んでいた。それ故、試料が 15° 近辺に置かれた場合には、これらの酵母の産生するプロテアーゼおよびリパーゼによる食品の鮮度低下は避けられないものと考えられる。

5° 培養におけるタンパク、脂肪分解能については、Eklund³⁰⁾ らの成績があるので比較しながら検討を行った。Eklund らのタンパク分解能試験は著者らの方法と同様であったが、脂肪分解能試験はナイルブルー硫酸寒天培地及びスピリットブルー寒天培地を用いるなどいくつかの相異があった。また、Eklund らは、検体にかに肉 (Dungeness crab meat) を用いたことと、菌属レベルでの成績であることが著者らとは異っていたが、タンパク分解能陽性率は、Eklund らの 6 日培養での 18.5% (10/54 菌株) に対し、著者らは 7 日培養で 21.2% であり、脂肪分解能陽性率は、Eklund らが 35.2% (19/54 菌株)、著者らは 30.3% であった。両者のタンパク及び脂肪分解能陽性率にはさほどのへだたりがみられず、また脂肪分解能陽性率がタンパク分解能陽性率よりは高い値を示した点も同様の傾向にあった。分解能陽性菌属についての比較でみると、Eklund らの場合は *Candida*, *Cryptococcus*, *Trichosporon* の 3 属と black yeast が

検出されており、著者らの場合はこれに *Leucosporidium* と *Rhodotorula* が加えられた。Eklund³⁰⁾ らは菌種レベルで、培養温度別に分解能試験を行っていないので考察を行い難いが、0.5° で良好な生育を示す *Trichosporon* sp.²⁷⁾ に強いタンパク・脂肪両分解能が認められたことなどから考えて、低温酵母による食品の腐敗への関与が十分示唆されるものと思われる。著者らの試験結果では、5° 培養の4日以内にタンパク・脂肪分解能を示した酵母は、冷凍牛肉の腐敗原因菌^{27), 31)} と同じ菌種である *Tr. pullulans*, タンパク・脂肪両分解性の *C. lipolytica*, *Leu. gelidum*, また、*C. parapsilosis*, *C. santamariae* など4属8菌種であった。これらの酵母は、*Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Staphylococcus* などの細菌^{1), 2)}、及び *Acremonium*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Penicillium* などの糸状菌^{1), 2)} とともに試料のなかに混在していた。5° 培養でも1~4日以内にプロテアーゼ又はリパーゼ、あるいはプロテアーゼとリパーゼの両者を共に産生する酵母が検出されたことから、冷蔵そう菜類及び鮮魚介類は5° 以下での厳重な低温管理が必要であろう。

要 約

市販冷蔵そう菜類及び鮮魚介類から分離した低温酵母の生育温度範囲を調べ、5°, 15°, 25° 培養におけるタンパク及び脂肪分解能試験を行った。

1. 生育温度試験の結果、供試 33 菌種のうち、*Leu. gelidum* と *Cr. infirmo-minutus* は、psychrophilic yeasts であり、このほかの 31 菌種は psychrotrophic yeasts であった。

2. 5°, 15°, 25°, 7日培養におけるタンパク分解能陽性率は、それぞれ 21.2%, 18.2%, 15.2%, バター脂肪分解能陽性率は、それぞれ 30.3%, 60.6%, 54.5%, 牛脂肪分解能陽性率は、それぞれ 12.1%, 24.2%, 36.4% であり、脂肪分解能陽性率の方がタンパク分解能陽性率よりは高い値を示した。

3. 15° 培養で4日以内にタンパク、脂肪分解能を示した酵母は、*Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Leucosporidium*, *Rhodotorula*, *Trichosporon* の6属14菌種 (42.4%) であり、5° 培養の4日以内にタンパク、脂肪分解能を示した酵母は、*C. lipolytica*, *C. parapsilosis*, *C. santamariae*, *C. valida*, *C. zeylanoides*, *Cr. laurentii*, *Leu. gelidum*, *Tr. pullulans* の4属8菌種 (24.2%) であった。なかでも psychrophile である *Leu. gelidum*, 5種類の食品から分離された *C. lipolytica* と *Tr. pullulans* は、低温で強いタンパク・脂肪両分解能を示す菌種であった。また鮮魚介類から頻繁に分離された *A. pullulans* 類似の U₁ 株は、15°, 2日培養でタンパク・脂肪両分解能を示した。

本研究の概要は、日本菌学会関東談話会 (昭和56年11月、東京) において発表した。

謝 辞

本研究を行うに当り貴重な御助言を賜った東京水産大学、堀江 進博士、東京家政大学、曾根田正己博士、国立衛生試験所、鈴木 昭博士、内山貞夫博士、東京大学応用微生物研究所、駒形和男博士、及び多くの資料を御提供下さった米国商務省海洋気象庁北西部・アラスカ漁業センター、メルビン・エクランド博士に深甚の謝意を表します。

文 献

- 1) 小島満子, 倉田 浩: 食衛誌, **21**, 189~196 (1980).
- 2) 小島満子, 倉田 浩: 同上, **21**, 197~206 (1980).
- 3) Ingram, M.: Yeasts in food spoilage p. 603~633 (1958), In Cook, A. H. ed., "Chemistry and Biology of Yeasts", Academic Press, Inc., New York.
- 4) Phaff, H. J., Miller, M. W., Mrak, E. M.: "The Life of Yeasts" p. 124~132 (1966) Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- 5) Walker, H. W.: Food Technol. **31**, 57~61 (1977).
- 6) Walker, H. W., Ayres, J. C.: In "The Yeasts" vol. 3, p. 463~527 (1970) Rose, A. H., Harrison, J. S. ed., Academic Press, London and New York.
- 7) 中瀬 崇: 食衛誌, **18**, 309~320 (1977).
- 8) Fabian, F. W., Wethington, M. C.: Food Res. **15**, 135~137 (1950).
- 9) Fabian, F. W., Wethington, M. C.: *ibid.* **15**, 138~145 (1950).
- 10) Hunter, A. C.: U. S. Dept. Agric. Bull. No. 819, 1~24 (1920).
- 11) 小島満子, 倉田 浩: 食衛誌, **24**, 525~531 (1983).
- 12) 小島満子, 倉田 浩, 駒形和男: 同上, **19**, 449~456 (1978).
- 13) Lodder, J. ed.: "The Yeasts, A Taxonomic Study" 2nd ed. p. 34~113 (1970) North-Holland Publ. Co., Amsterdam.
- 14) 後藤昭二著, 長谷川武治編: "微生物の分類と同定" p. 67~101 (1975) 東京大学出版会.
- 15) Eddy, B. P.: J. Appl. Bacteriol., **23**, 189~190 (1960).
- 16) Morita, R. Y.: Bacteriol. Rev. **39**, 144~167 (1975).
- 17) Forster, J.: Centr. Bakt. **12**, 431~436 (1892).
- 18) Schmidt-Nielsen, S.: Zentr. Bakteriell. Parasitenkd. Infektionsk. Hyg. Abt. II. **9**, 145~147 (1902).

- 19) Kruse, W.: Allgemeine Mikrobiologie. F. C. W. Vogel, Leipzig. (1910).
- 20) Edsall, G., Wetterlow, L. H.: J. Bacteriol. **54**, 31~32 (1947).
- 21) Hucker, G.J.: Food Technol. **8**, 79~108 (1954).
- 22) Groninger, H. JR., Eklund, M. W.: Appl. Microbiol. **14**, 110~114 (1966).
- 23) Vorbeck, M. L., Cone, J. F.: *ibid.* **11**, 23~27 (1962).
- 24) Mitsugi, K., Takami, T., Tobe, S., Kimura, M., Nakase, T., Komagata, K.: Agric. Biol. Chem. **35**, 1633~1635 (1971).
- 25) Lenney, J. F.: J. Biol. Chem. **221**, 919~930 (1956).
- 26) Nissen: (1930) 文献 5) より引用.
- 27) Eklund, M. W., Spinelli, J., Miyauchi, D., Groninger, H.: Appl. Microbiol. **13**, 958~990 (1965).
- 28) 川村 信一郎 訳: “食品の生化学” p. 165~229 (1973) 医歯薬出版 (株).
- 29) Hunter, K., Rose, A. H.: In “The Yeasts” vol. **2**, p. 211~270 (1971), Rose, A. H., Harrison, J. S. ed., Academic Press, London and New York.
- 30) Eklund, M. W., Spinelli, J., Miyauchi, D., Dassow, J.: J. Food Sci. **31**, 424~431 (1966).
- 31) Lodder, J., Sloof, W. C., Kreger-van Rij, N. J. W.: The classification of yeasts p. 1~62 (1958), In Cook, A. H. ed., “Chemistry and Biology of Yeasts”, Academic Press, Inc., New York.