HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	サメ肉腐敗の微生物化学的研究：第4報 尿素分解菌の尿素分解能力に及ぼす温度の影響について
Author(s)	木村, 喬久
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 8(4), 310-313
Issue Date	1958-02
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/23018
Type	departmental bulletin paper
File Information	8(4)_P310-313.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

サメ肉腐敗の微生物化学的研究

第4報　尿素分解菌の尿素分解能力に及ぼす温度の影響について

木　村　喬　久
（北海道大学水産学部水産細菌学教室）

Studies in the Bacteriological Chemistry of Shark Muscle Spoilage

IV. On the effects of temperature upon the urea decomposing ability of the urea-splitting bacteria isolated from spoiling shark muscle

Takahisa KIMURA

Abstract

In the present work, the effect of temperature upon the ability to decompose urea possessed by K-10 strain, which has stronger urease activity than the other four isolated urea-splitting bacteria[1] was observed.

The results can be summarized as follows;

1) The multiplication of this strain showed maximum at about 35°C and much decreased at over 45°C or under 25°C.
2) The optimum temperature of the urease activity of this strain laid at about 60°C, and became remarkably inactive at over 60°C but it showed comparatively higher activity at such lower temperature as those near 0°C.
3) It was inferred from the results obtained as 1) and 2), that the optimum to promote the urea decomposing ability of this strain laid at about 40°C.
4) The urea was decomposed comparative quickly even at such a low temperature as −5°C by the living cell of this strain, which has already grown and multiplied in above cultivation.
5) It is inferred from 4), that urea decomposition of shark muscle in refrigeration depend decidedly upom the freshness of the raw materials.

著者は前報に[2]おいて，鮫肉より分離した尿素分解菌 K-10 株の尿素分解能に及ぼす水素イオン濃度の影響について報告し，その至適水素イオン濃度は pH 7.9 前後にあることから，鮫肉の鮮度保持，特に尿素の分解を阻止するためには可及的に新鮮なときにおいて，換言するならばでき得る限り鮫肉の pH が酸性領域にある間に，何等かの手段によつて尿素分解菌の尿素分解能力を抑制するならばより効果的であらうと推論した。本報においては該菌の尿素分解能力，すなわち発育増殖及び Urease 活性に及ぼす温度の影響，特に魚類の鮮度保持の一重要方法である低温（冷蔵）保存法に関連して，低温度における影響についても実験を試み，若干の知見を得たのでこゝに報告する。

I　K-10株菌の発育に及ぼす温度の影響

a)　実験方法

前報[2]に準じて比色用試験管中に分注したペプトン水に一定量の供試菌を接種後（30°C，24時間培養のペプトン水培養液 0.1cc）20°C～45°C の各温度で培養し，光電比濁法により一定時間隔に発育の程度を測定した。

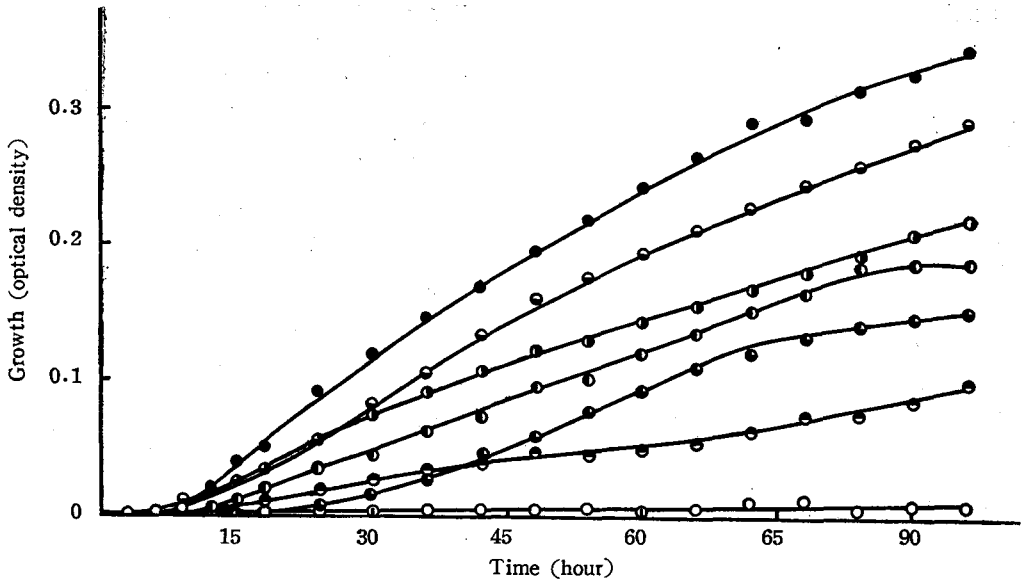

Fig. 1　Effect of temperature on the growth of K-10 strain
○ 0°C ◐ 20°C ◐ 25°C ◑ 30°C ● 35°C ◒ 40°C ◓ 45°C

b)　実験結果

以上のやうな方法により，K-10株菌の発育に及ぼす温度の影響を観察した結果は Fig 1 に示す通りである。すなわちいづれの温度においても約10時間の lag phase の後増殖を開始し，35°C で最も旺盛な発育が見られ，次いで40°C，30°C，25°C，20°C，45°C，の順に発育度が低下し，45°C 以上の高温及び25°C 以下の低温における発育はきわめて遅慢であつた。

II　K-10株菌の Urease 活性と温度の関係

a)　実験方法

i　酵素液の調製……前報[2] 同様の方法により調製した凍結乾燥菌体浮游液を酵素液として用いた。

ii　酵素活性の測定……同じく前報[2] に準じ，上記酵素液 0.5cc 及び pH 7.9 燐酸塩緩衝液1.0cc，終末２％の基質尿素液 0.5ccの混合液を，0°C～70°Cの各温度で20分間反応せしめ，前報[2] で述べた如き Nessler 比色法の改良法によつて光電比色し，吸光度に100を乗じて酵素活性として表はした。

b)　実験結果

以上のやうな方法により，K-10 株菌の Urease 活性に及ぼす温度の影響を観察した結果は Fig 2 に示す通りである。すなわち反応温度の上昇につれて活性は増大し 60°C前

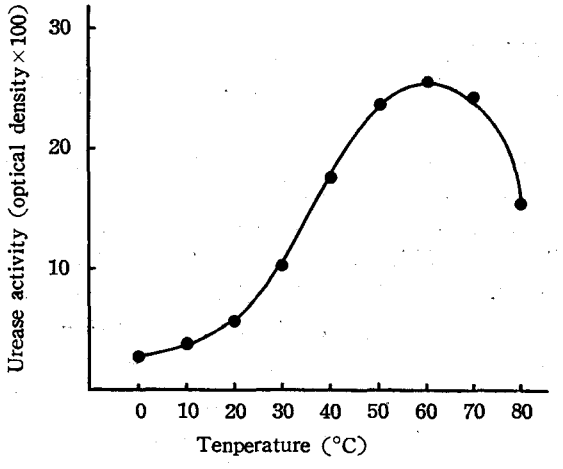

Fig. 2　Effect of temperature on the urease activity of intact cell suspension of K-10 strain

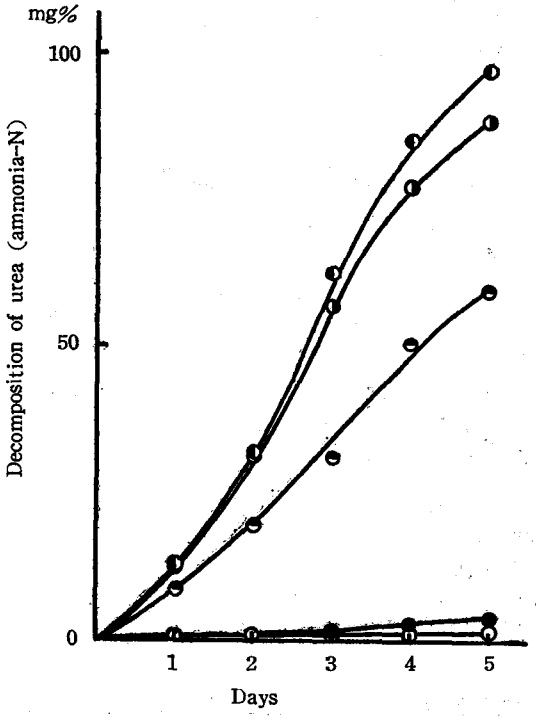

Fig. 3 Urea decomposition at low temperature as −5°C by the cultivated living cell of K-10 strain as follows, ○ not cultivation ● 1 day's cultivation ◐ 2 days' cultivation ◑ 3 days' cultivation ◐ 4 days' cultivation

後において最大の活性を示すが，更に温度が上昇すると急激な活性の減少が見られる。一方低温側においては，30°C前後を境として温度の低下にともなふ活性度の減少は比較的少なく，最低0°Cにおいても比較的高い活性を示した。

III K-10株菌の −5°C の低温度下における尿素分解能力

a) 実験方法

20cc のペプトン水に一定量の K-10 株菌を接種し0〜4日間 37°C で培養後，各培養液に終末2％となるよう濾過滅菌尿素液を添加し，この混合液を約 − 5°C の冷所に保存し，以後一定時間隔に Ammonia−N の変化を測定して尿素分解の度合を観察した。なお Ammonia-N の測定は Conway の微量拡散分析法[3] によつた。

b) 実験結果

以上のような方法によつて，低温度下における尿素分解能力を観察した結果は Fig 3 に示す通りである。すなわち培養日数に比例して，換言すれば菌の発育度に比例して，順次多量の Ammonia-N の発生を示し，4日培養のものにおいては −5°C の冷所においても5日間において100mg%程度の Ammonia-N の発生が観察された。なお尿素無添加のものにおいてはほとんど Ammonia − N の発生が認められなかつたので，この Ammonia − N の発生はすべて尿素の分解によるものと考えられる。

考 察

以上の実験結果から次のようなことが考察される。すなわち Fig 1，Fig 2 の結果から本菌の尿素分解能力は40°C 前後において最大を示し，40°C においては発育が非常に悪くなるためその分解能力は急激に減少するものと考えられる。しかし一方 Fig 2 の結果に示されるようにこの菌の Urease 活性は 0 °C の低温においてもなお比較的強いことが認められる。この事実は興味あることで冷蔵保存中の鮫肉が多量の Ammonia − N を生成することと深い関連性があるものと推察される。すなわち或る程度鮮度が低下し，此の種の細菌の発育増殖した鮫肉においては，その後の冷蔵保存によつても尿素の分解は比較的速やかに進行することが想像される。以上のような仮定は Fig 3 の結果により更によく説明される。すなわち予め4日間の前培養を行つて，この菌の発育増殖が相当進んだものにおいては，−5°C の低温においても尿素の分解は阻止し得ず冷蔵保存5日目において，約100mg% の Ammonia − N の発生が認められた。これに反し殆ど菌が発育していない若い培養のものにおいては Ammonia − N の発生は極めて僅少であつた。この事実から考えて前記の仮定は妥当であり，前報[1] において著者が推論したように K − 10 株菌の如き尿素分解菌が鮫肉の尿素分解の主要な役割をなしているとすれば，或る程度鮮度が低下してこの種の細菌がすでに或る程度発育増殖してしまつたものにおいては冷蔵保存により鮫肉の尿素分解を阻止することは困難で，逆に云うならば鮮度の良好なものほど尿素分解阻止の効果を上げ得るものと考えられるが，このことについては更に次の機会に実際

に鮫肉を用いて実験を行いより明確な結論を得たいと考えている。なほ Sumner[4] の云う如く Urease は他の植物酵素と同じように至適温度が非常に高く短時間では65°C 附近にあるが，Fig 2 に見られる如く本菌の Urease 活性の至適温度もまた比較的高く60°C前後にあるものと考えられる。

要　　約

腐敗過程における鮫肉より分離した尿素分解菌 K-10 株の尿素分解能力に及ぼす温度の影響について観察し次の如き結果が得られた。

1) K-10株菌の発育増殖は 35°C 前後で最も旺盛で 45°C 或は25°C以下においてはきわめて緩慢である。

2) 本菌の Urease 活性は，60°C 附近で最大を示し，これ以上の高温では急激に不活性化するが 0 °C附近の低温度においては比較的高い活性を示す。

3) 1)，2)，から本菌の尿素分解能力は約 40°C 前後で最大を示すものと考えられる。

4) 前培養によりすでに相当程度に本菌が発育増殖したものでは，−5°C の低温度においても尿素分解は比較的急速に進行する。

5) 4)から考えて鮫肉の冷蔵効果は，原料の鮮度に左右されるものと思はれる。

終りに臨み，本報告の御校閲及び御指導を賜つた本学谷川教授並に坂井助教授に深甚の謝意を表する。

本論文の要旨は昭和31年度日本水産学会秋季大会（於，広島大学）において報告した。

文　　献

1) 木村喬久 (1956). 北大水産彙報 6, 310.

2) ———— (1957). 同誌 8, 158.

3) Conway E. J. & O'Malley E. (1942). Biochemical J. 36, 665.

4) Sumner J. B. & Myrback K. (1951). "The Enzymes," 1, 889, Academic Press, New York.