



Title	魚類のPartial Freezing時における微生物生態学的研究－Ⅰ：Partial Freezing時における原料サバの微生物相の変化と化学的变化について
Author(s)	趙, 永濟; Cho, Youngje; 信濃, 晴雄 他
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 35(4), 271-285
Issue Date	1984-11
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/23868
Type	departmental bulletin paper
File Information	35(4)_P271-285.pdf



魚類の Partial Freezing 時における微生物
生態学的研究-I
Partial Freezing 時における原料サバの微生物相の
変化と化学的变化について

趙 永濟*・信濃 晴雄*・秋場 稔*

Studies on the Microbiological Ecology of Mackerel Stored by
the Method of Partial Freezing-I
Changes in Microflora and Chemical Compounds in
Mackerel Stored by Partial Freezing

Youngje CHO*, Haruo SHINANO* and Minoru AKIBA*

Abstract

Using mackerel in order to study the effects of partial freezing storage (-3°C , air-blast or brine immersion) on preseving of fish biochemically and bacteriologically, the changes in viable bacterial count, microflora, K-value, TMA-N and VB-N were investigated at 25°C , 0°C , -3°C and -20°C storage.

The initial viable bacterial count of the mackerel was $2.6 \times 10^4/\text{cm}^2$ and the generic composition of the microflora included the genera *Moraxella* (46%), *Flavobacterium/Cytophaga* (31%), *Pseudomonas* (III/IV-H type, 6%), *Vibrio* (4%), *Micrococcus* (2%) and *Staphylococcus* (6%). When stored at 25°C and 0°C , the viable bacterial counts increased to $6.2 \times 10^7/\text{cm}^2$ and $4.5 \times 10^7/\text{cm}^2$ after 2 and 15 days, respectively, and the genera *Pseudomonas* (III/IV-NH type) and *Pseudomonas* (I/II type) were dominant regardless of the stored temperature, that is, whether it was 25°C or 0°C . Throughout the period of partial freezing storage, however, no remarkable changes in the viable bacterial count was observed. In the case of storage by the air-blast method (-3°C), the genus *Pseudomonas*(I/II type) was dominant. On the other hand, the genus *Moraxella* was recognized as dominant in the case of brine immersion.

The K-value of the mackerel muscle stored at 0°C was 63% after 12 days, but the value obtained at -3°C was 35% after same number of days. The difference in the K-value between 0°C and -3°C was remarkable in spite of the small variation in temperature.

Changes in the amounts of TMA-N and VB-N were parallel to changes in the viable bacterial counts. During partial freezing storage, the production of TMA-N and VB-N from muscle was less than for the sample stored at 25°C and 0°C .

緒 言

Partial Freezing 法(以下 PF 法と記す)は氷蔵, 冷蔵, 冷凍などの低温貯蔵法の一つであるが,

* 北海道大学水産学部食品製造学講座
(Laboratory of Marine Food Technology, Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

魚類の2~3週間の短期貯蔵法としての有用性が注目され、貯蔵中における魚類の鮮度判定指標の一つであるK-値をはじめとして、蛋白質の変性、TMA-N、VB-NおよびTBA値の変化など、化学的側面からの研究報告^{1)~9)}は多いが、貯蔵効果に最も大きな影響を及ぼす微生物学的な面からの報告例^{10)~13)}は限られているのが現状である。本研究ではPF法で魚類を保存した場合とその他の温度(25°C, 0°C及び-20°C)で保存した場合とについて、その貯蔵期間中におけるK-値、TMA-N及びVB-Nなどの化学的変化並びにそれらに対応した試料の生菌数及び微生物相の変遷を比較検討し、PF法の保存効果を微生物学的側面から解明するための一つの基礎的資料を得たのでその結果について報告する。

実験方法

供試魚

供試魚としてはマサバ、*Scomber japonicus*、を用いた。小売店で入手した新鮮なサバ(400~500g)を水氷に浸漬し、直ちに実験室に持ち帰り水分の蒸発を防止するため一尾ずつポリエチレン袋に収納して(ブライン浸漬供試魚はそのまま)25°C, 0°C, -3°C(PF法, エアースラスト及びブライン浸漬)及び-20°Cの各温度で貯蔵した。これらの試料魚は3尾を単位として一定期間毎にそれらの化学的変化(K-値, TMA-N及びVB-N), 生菌数及び微生物相の変遷を観察した。またブラインとしては蒸留水にエタノールを5%, 食塩を3%の割合に添加したものをを用い、供試魚をこのブラインに直接浸漬した場合の肉質に浸透するエタノール及び食塩量も測定した。

供試魚の化学的変化及びエタノールと食塩の浸透量

供試魚を各実験温度で保存した場合のTMA-N及びVB-N量はConway微量拡散法⁹⁾により定量した。また、K-値は過塩素酸で除タンパクした供試魚の抽出液を内山ら¹⁰⁾の考案によるカラムクロマトグラフィーによる簡易法で測定した。なお、ブライン浸漬された供試魚の肉質へのエタノールと食塩の浸透量は食塩の場合にはMohr法¹¹⁾。エタノールについては酸化還元法¹²⁾によった。

生菌数の測定

供試魚の皮膚10cm²を含む背肉10gを無菌的に採取し、それに50%人工海水90mlを加えてホモジナイザーで約2分間細砕したものを原液として50%人工海水寒天平板培地を用いて表面塗抹培養法(20°C, 3日間)によって皮膚1cm²当りの生菌数を測定した。なお、人工海水はLyman and Fleming¹³⁾のものをを用いた。

分類学的検査法

各供試魚の生菌数測定を終了したシャーレから無作為的に集落を釣菌し、1350株の菌株を得た。これらの分離菌株は50%人工海水寒天平板培地で画線培養を行い純粋分離菌株とした。得られた分離菌株はShewanら^{14)~15)}、奥積ら¹⁶⁾、Baumanら¹⁷⁾およびBaird-Parkerら^{18)~19)}の方法によってgenusレベルの分類を行った。なお、試験項目は以下に示す通りである。なお培養温度は特記しないかぎり25°Cである。

1. 形態学的及び生物学的性状

1) 菌形

50%人工海水寒天斜面培地で25°C, 16~20時間培養菌について菌形及び細胞の配列を観察し

た。

2) 運動性

懸滴標本により観察した。

3) グラム染色性

Huckerの変法によった。

4) 食塩添加固形培地における発育

ブイヨン寒天培地に0, 0.5及び7%の食塩を添加し発育の程度を観察した。

5) ペニシリン感受性試験

Corlettら²⁰⁾の方法によって行った。

2. 生化学的性状検査

1) カタラーゼ産生試験

スライドグラス上に3%過酸化水素水を数滴とり、24時間前培養した供試菌の少量を混和し発泡の有無を観察した。

2) チクトロームオキシダーゼ試験

Kovacs²¹⁾の方法によった。

3) 糖の分解

基礎培地としてHugh-Leifson培地²²⁾を使用し、供試菌を穿刺培養後、糖(グルコース)からの好気的および嫌气的酸生成を観察した。

4) カゼインの水解

ミルク寒天平板培地に供試菌を画線培養し、培地の透明化の有無を観察した。

5) 硝酸塩の還元能検査

0.1%の割に硝酸カリを添加したブイヨンに供試菌を接種し4日間培養後Tittslerの方法²³⁾によって硝酸塩の還元能を観察した。

6) 硫化水素産生能試験

ペプトン水に供試菌を接種し、綿栓と試験管の間に挟んだ鉛糖紙の黒変化によって判定した。

結果及び考察

1. 各温度で貯蔵した供試魚の化学的組成および生菌数の変化

1) K-値

K-値は魚肉の鮮度判定指標の一つでATP分解生成物全量に対するイノシン(HxR)とヒポキサンチン(Hx)量の100分率で表示される。この値が小さい程、鮮度良好なことを示し、即殺魚では10%以下、生鮮魚では20%前後、すり身やかまぼこ原料魚では60~80%に及ぶものもあることが知られている。本研究における供試魚のK-値の変動はFig. 1に示した通りである。即ち、貯蔵直前のK-値は約20%であったが、各種貯蔵温度のうち常温貯蔵である25°Cの場合には1日で早くも80%を越え腐敗状態に達した。0°C貯蔵ではK-値の増加速度は鈍り、貯蔵後12日目まで初期腐敗と考えられる60%を僅かに越える値であった。一方、-3°Cのエアーブラスト貯蔵では0°C貯蔵と同一日数の12日目におけるK-値は35%と0°C場合の約1/2の値で、0°Cと同一値になるには45日間を要した。また、-3°Cのブライン貯蔵においては、エアーブラスト貯蔵に比較して多少高い値を示したが、これは供試魚のATP分解生成物の一部がブライン中に拡散した結果と思われる。この様に0°C貯蔵と-3°C貯蔵の両者間にみられる大きなK-値の差はこの温度帯における3°Cという極めて小さな温度差が供試魚の鮮度保持効果に大きな影響を与えることを示

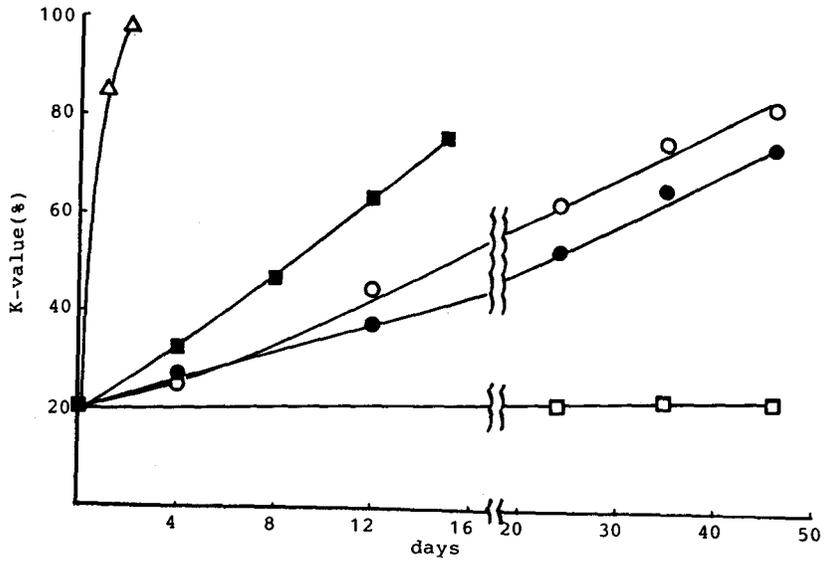


Fig. 1. Changes in K-value of mackerel during storage at room temperature (25°C △), 0°C (■), -3°C partial freezing (air-blast ●, brine immersion ○) and -20°C (□).

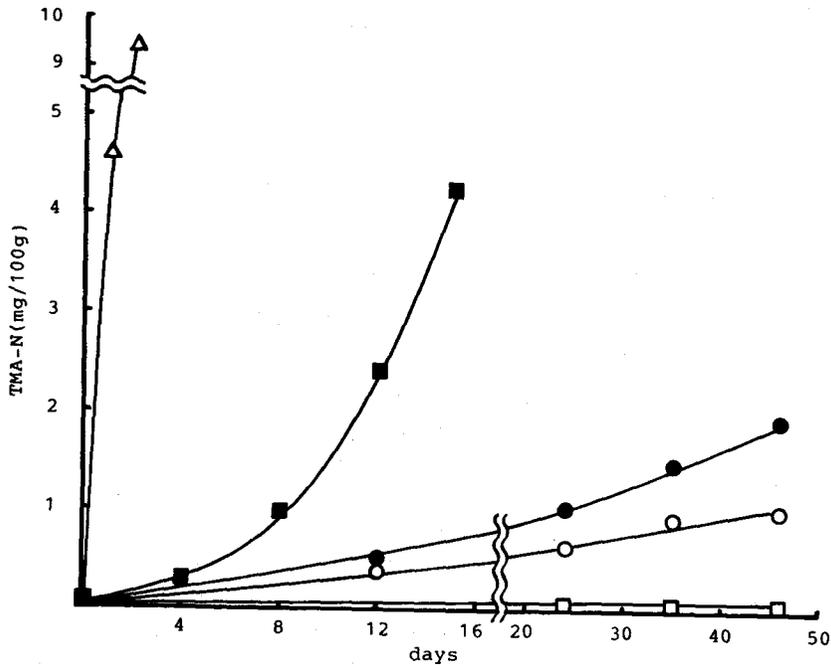


Fig. 2. Changes in the amount of TMA-N in mackerel during storage at room temperature (25°C △), 0°C (■), -3°C partial freezing (air-blast ●, brine immersion ○) and -20°C (□).

趙ら：魚類のPartial Freezing

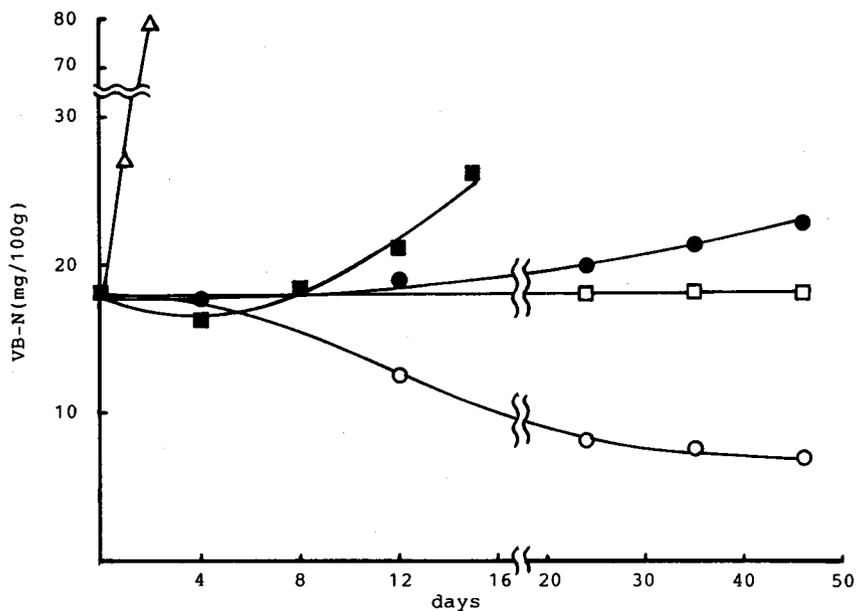


Fig. 3. Changes in the amount of VB-N in mackerel during storage at room temperature (25°C △), 0°C (■), -3°C partial freezing (air-blast ●, brine immersion ○) and -20°C (■).

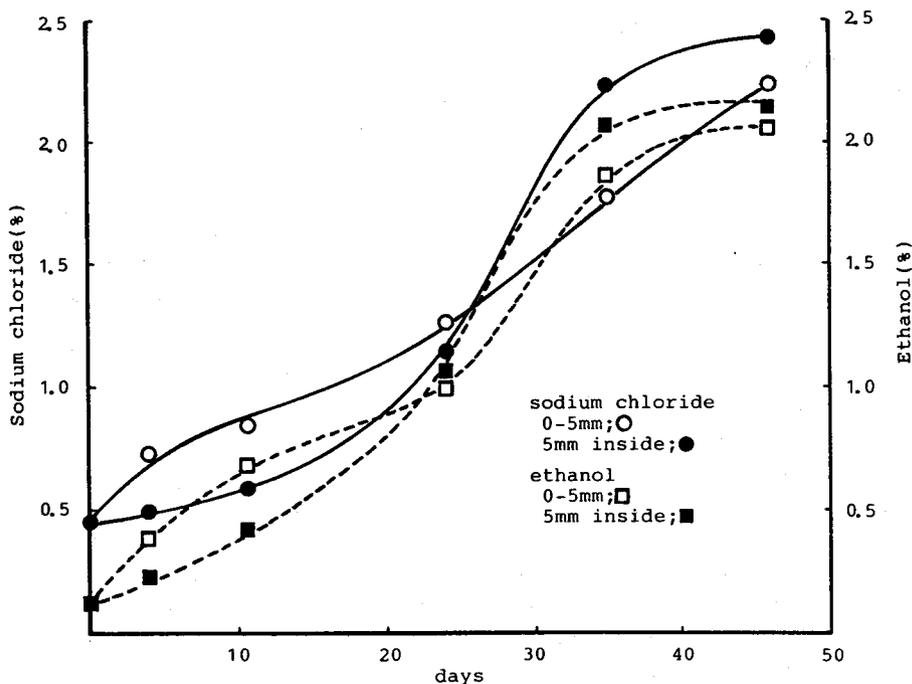


Fig. 4. Sodium chloride and ethanol uptake in mackerel muscle stored in -3°C brine (3% NaCl+5% ethanol).

Table 1. Results of the identification of the

Characteristics	Ps.*1 I/II	Ps. III/IV-NH	Ps. III/IV-H
	Rod	Rod	Rod
Form	Rod	Rod	Rod
Motility	+*3	+	+
Gram stain	-*4	-	-
Acid from glucose: aerobic	+	-	-
anerobic	-	-	-
Cytochrome oxidase	+	+	+
Catalase	+	+	+
Hydrogen sulfide production	-	+	-
Nitrate reduction	-	+	-
Casein hydrolysis	+, -	+	+
Growth in NaCl: 0%	+	+	-
7%	-	-	+
Yellow pigment	-	-	-
Penicillin sensitivity(3 IU/ml)	-	-	-

*1: *Pseudomonas* *2: *Flavobacterium/Cytophaga* *3: Positive

*4: Negative

唆する結果であった。なお、-20°CにおけるK-値の変動は全く観察出来なかった。

2) TMA-N

TMAはエキス成分として魚類の筋肉中に含有されているTMAO(trimethylamine oxide)が細菌の酵素によって還元されて生成する物質である。このTMAは生鮮魚にはほとんど存在せず、魚の死後その増加の割合がアンモニアよりも大きく、鮮度判定指標の一つとして使用されている。ただ、サメやエイなどの板鰐類に属する魚類ではエキス成分中に尿素を含むためにアンモニアの生成が著しい。魚類の中でも淡水魚ではTMAO含量は極めて少ないが海産魚には板鰐魚類などのように含有量の多いもの(500~1,000 mg/100 g)を含めて、平均200~600 mg/100 g程度のTMAOが見られ、イカやタコなどの軟体動物では100~200 mg/100 g、貝類では10~50 mg/100 g程度とされており、TMA量による鮮度判定は主に海産魚を対象としている。なお、海産魚の場合にもTMA量を基にして、鮮度判定を行なう場合、魚種によって初期腐敗の限界値が異なるため(タラ類では4~6 mg/100 g、ニシンでは7 mg/100 g、マグロでは1.5~2.0 mg/100 g)TMAの測定値で鮮度判定を行う場合には官能検査など、他の方法を併用することが必要である。

本実験に供試したサバの各貯蔵温度における経時的TMA-N生成量をFig. 2に示した。これからも明らかのように25°C貯蔵のものは貯蔵直後から急激にTMA-Nが生成され、2日後には9.4 mg/100 gを示して完全に腐敗の状態に達した。また、0°Cの場合には8日目には約1.0 mg/100 gの値を示したが、この時点では官能的に何らの異常も認められなかったのに対し、12日目では2.4 mg/100 gの値を示し、15日後の4.2 mg/100 gの場合には腐敗臭が感ぜられた。一方、-3°C貯蔵におけるエアープラスト法ではTMA-Nの生成は12日目において僅かに0.5 mg/100 gの値で、0°C貯蔵の同時点における生成量に比較して極めて低い値であり、46日目においても約2 mg/100 gで、僅かに異臭が感ぜられる程度であった。このように0°Cと-3°Cとの貯蔵温度において顕著な鮮度の差が認められることは前述のK-値の場合と同様なパターンであり、0°C付近の温度域に

趙ら：魚類のPartial Freezing

strains isolated from mackerel.

Genus (Group)					
<i>Moraxella</i>	<i>Acinetobacter</i>	F/C*2	<i>Vibrio</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>
Stout Rod	Stout Rod	Rod	Rod	Coccus	Coccus
-	-	+, -	+	-	-
-	-	-	-	+	+
-	-	-	+	+	+
-	-	-	+	-	+
+	-	/	+	/	/
+	+	/	+	+	+
-	-	/	+, -	/	/
+, -	-	/	+	/	/
-	-	/	+, -	/	/
+	+	/	-	/	/
+	-	/	-	/	/
-	-	+	-	-	+, -
+	-	/	-	+	+

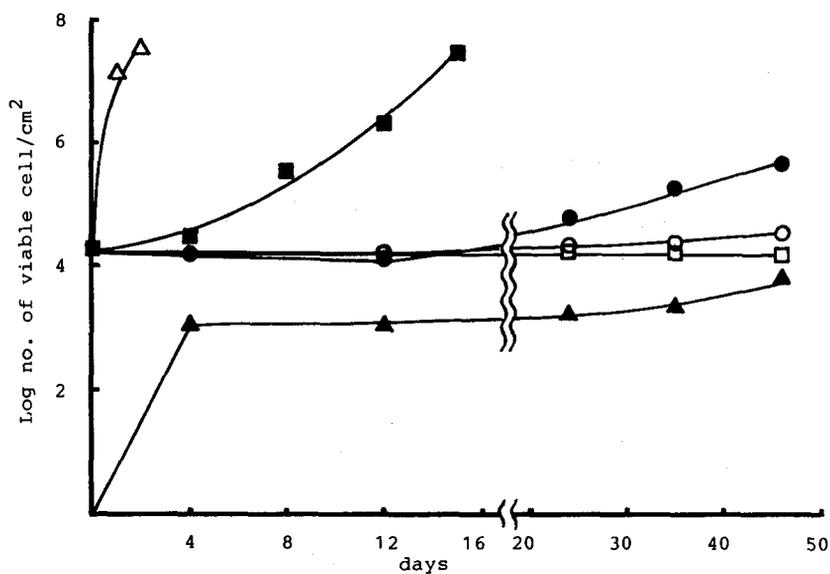


Fig. 5. Changes in viable bacterial count of mackerel during storage at room temperature (25°C Δ), 0°C (\blacksquare), -3°C partial freezing (air-blast \bullet , brine immersion \circ , brine solution \blacktriangle) and -20°C (\square).

Table 2. Numbers of the strain isolated from the mackerel stored at various temperatures.

Temperature Genus (Group)	No. of bacteria before the storage	25°C	0°C	-3°C			-20°C	Total
				Air-blast	Brine immersion	Brine solution		
<i>Pseudomonas</i> I/II	0	23	37	50	2	2	0	114
<i>Pseudomonas</i> III/IV-NH	0	64	29	1	4	0	0	98
<i>Pseudomonas</i> III/IV-H	4	17	0	34	0	6	6	61
<i>Marazella</i>	23	31	111	140	181	163	95	744
<i>Flavobacterium/Cytophaga</i>	15	0	14	18	40	64	37	188
<i>Acinetobacter</i>	3	4	2	3	4	4	0	20
<i>Vibrio</i>	2	4	2	1	2	0	0	11
<i>Micrococcus</i>	1	4	0	2	2	0	6	15
<i>Staphylococcus</i>	2	1	3	4	10	14	10	44
Not determined	1	10	11	6	15	7	5	55
Total	51	158	209	259	260	260	153	1350

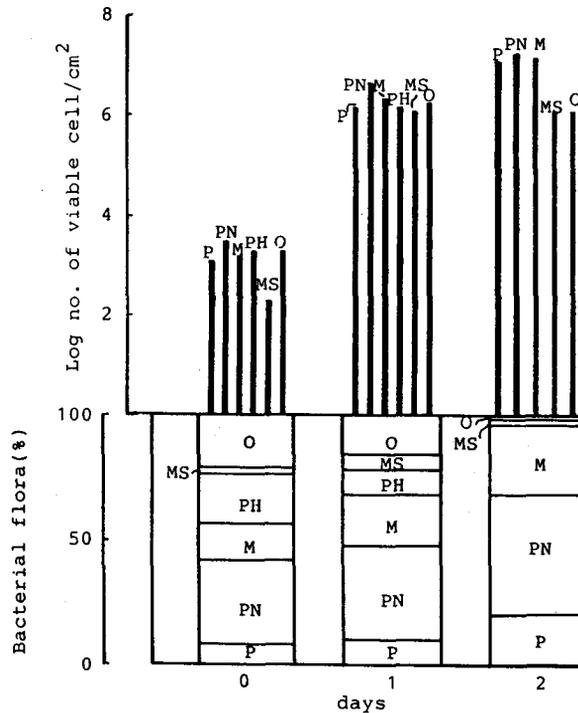


Fig. 6. Changes in bacterial flora of mackerel during storage at room temperature (25°C).

Others contain *Vibrio*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium/Cytophaga* and unidentified bacteria.

P; *Pseudomonas* I/II PN; *Pseudomonas* III/IVNH
 PH; *Pseudomonas* III/IV-H MS; *Micrococcus* + *Staphylococcus*
 M; *Morazella* O; Others

おいては僅少な温度差がTMA-Nの産生に大きな影響を及ぼすというCastellら²⁴⁾の報告と一致する結果であった。また、ブライン浸漬法で得られたTMA-N量は実験期間を通じエアブラスト法で得られたものよりも低い値であったが、これはK一値の場合と同様の理由によるものと推察された。なお、-20°C貯蔵の場合にはTMA-Nの生成はほとんど認められなかった。

3) VB-N

VB-Nはアンモニアを主体とした揮発性塩基窒素の総称で、魚類の腐敗段階で生成されるために腐敗指標として使用されており、極めて新鮮な魚肉で5~10 mg/100 g、通常の鮮度の魚肉では15~25 mg/100 g、腐敗初期の魚肉では30~40 mg/100 g、腐敗した魚肉で50 mg/100 g以上と一般的に言われているが、サメやエイなどのように多量の尿素やTMAOを含みアンモニアやTMA生成の著しいものには適用されない。

本研究の各種貯蔵温度における供試魚のVB-N産生の経時的变化はFig. 3に示す如くである。即ち、25°Cでは供試魚のVB-Nの生成速度は大きく、貯蔵直前には18 mg/100 g程度のVB-N量が1日後で27 mg/100 g、2日後では約80 mg/100 gに達し完全に腐敗の段階に至った。0°CにおけるVB-N量は4日目まではやや減少傾向を示したが、以後漸増し15日においては26 mg/100 g程度の値であった。一方、-3°C貯蔵のエアブラスト法では実験期間を通じVB-N量の増加は緩慢で、46日後も22 mg/100 g程度の値を示し、VB-N生成の抑制効果が顕著に認められた。また、同温度におけるブライン浸漬法では生成したVB-Nが浸漬液中に拡散するためと思われるが、貯蔵

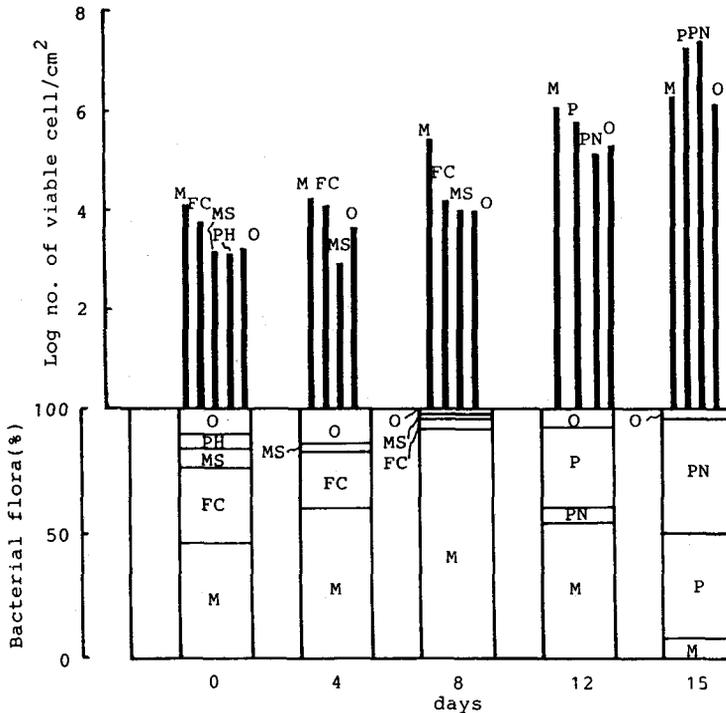


Fig. 7. Changes in bacterial flora of mackerel during storage at 0°C.
 Others contain *Vibrio*, *Acinetobacter* and unidentified bacteria.
 P; *Pseudomonas* I/II PN; *Pseudomonas* III/IV-NH
 M; *Moraxella* FC; *Flavobacterium*/*Cytophaga*
 O; Others MS; *Micrococcus* + *Staphylococcus*

直後から実験期間を通じて減少傾向にあった。なお、 -20°C 貯蔵の場合には VB-N 量の変化は見られなかった。

4) エタノール及び食塩の供試魚筋肉中への浸透

供試魚の -3°C 貯蔵時におけるブライン浸漬法の場合には、ブライン中に5% エタノール及び3%の食塩が含まれており、時間の経過とともにそれらの溶質が試料中に浸透するが、その浸透量の変化を Fig. 4 に示した。エタノール、食塩ともに貯蔵初期には皮下5 mm までの筋肉中への浸透量が5 mm 以深の筋肉中への浸透量より多かったが、貯蔵後23日目頃からは5 mm 以深への浸透量が多かった。このことは長期貯蔵による肛門からの溶質の浸透によるものと思われる。貯蔵46日には食塩及びエタノールの浸透量はそれぞれ2.3~2.4% 及び2.1~2.2% 程度の値を示した。

5) 生菌数の変化

各種温度で貯蔵した場合の供試魚の生菌数及び -3°C 貯蔵時のブライン浸漬法のブライン中の生菌数の変化を Fig. 5 に示した。貯蔵直前の供試魚生菌数は $2.6 \times 10^4/\text{cm}^2$ 程度であったが、貯蔵温度 25°C では1日で $10^7/\text{cm}^2$ にまで達し、明らかに腐敗臭も感ぜられ、2日後には完全に腐敗し、供試魚の腐敗の早いことが観察された。 0°C では 25°C の場合に比較して生菌数の増加速度はかなり低く、12日目まで $10^6/\text{cm}^2$ 程度で、15日目に到り腐敗臭が感ぜられ生菌数も $4.5 \times 10^7/\text{cm}^2$ に達した。一方、 -3°C のエアースラスト法で貯蔵した供試魚の生菌数についてはすでに奥積ら⁶⁾ が報告している如く、貯蔵初期は僅かに減少傾向にあったが以後12日目頃から微増を示し、貯蔵46日目でも $6.5 \times 10^5/\text{cm}^2$ 程度の生菌数にとどまった。また、同じく -3°C 貯蔵でのブライン浸漬法では

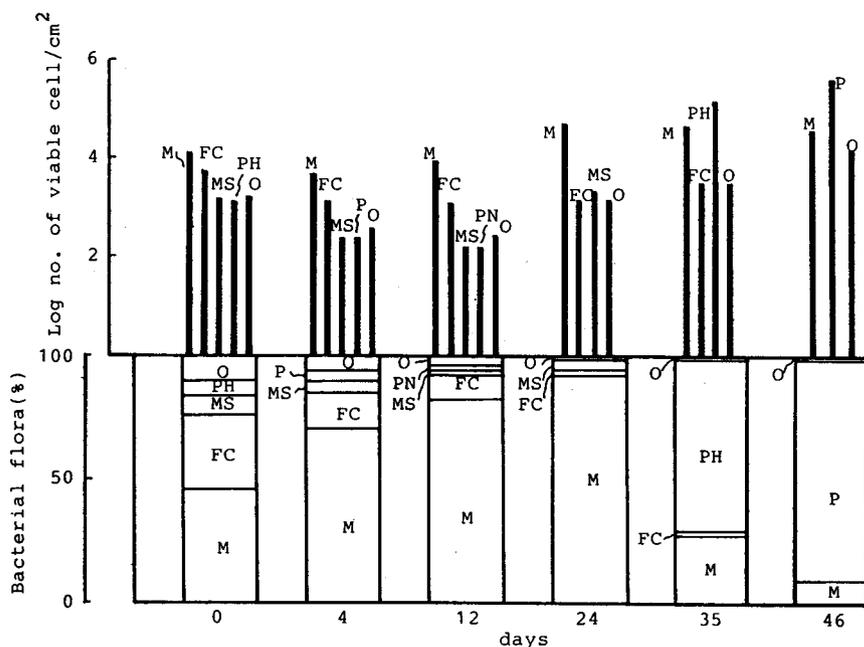


Fig. 8. Changes in bacterial flora of mackerel during storage at -3°C partial freezing (air-blast). Others contain *Vibrio*, *Acinetobacter* and unidentified bacteria.

- P; *Pseudomonas* I/II PN; *Pseudomonas* III/IV-NH
 PH; *Pseudomonas* III/IV-H FC; *Flavobacterium*/*Cytophaga*
 M; *Moraxella* MS; *Micrococcus* + *Staphylococcus*
 O; Others

さらに生菌数は少なく46日目において $6.5 \times 10^4/\text{cm}^2$ と貯蔵直前の供試魚の生菌数に比べてほとんど差がなかったが、これは浸漬液中への菌の流出が原因と考えられる。-20°C貯蔵においては生菌数の増加は全く見られなかった。

2. 分離菌の分類

各貯蔵温度別供試魚からの分離菌株数は貯蔵直前の試料からの51株、25°C貯蔵区の試料からの158株、0°C区からの209株、-3°C PF法のエアースラスト区からの259株、-3°Cブライン浸漬区からの260株、-3°Cブライン液からの260株および-20°C区からの153株の総計1350株である。これらの菌株はShewanら¹⁴⁾⁻¹⁵⁾、奥積ら¹⁶⁾、Baumanら¹⁷⁾およびBaird-Parkerら¹⁸⁾⁻¹⁹⁾の方法に準拠して属レベルの分類を行った。すなわち、1350株の分離菌中273株はチトクロームオキシダーゼおよびカタラーゼ陽性のグラム陰性桿菌で単極毛を有し、炭水化物は非発酵的でペニシリンの感受性を持たないなどgenus *Pseudomonas*に属する菌株であった。これらの273株の菌株は好気条件下におけるグルコースの分解能、硫化水素産生能、硝酸塩の還元能および好塩性の諸性状から114株が*Pseudomonas* I/II型に、98株が*Pseudomonas* III/IV-NH型に、61株が*Pseudomonas* III/IV-H型にそれぞれ分類された。また、グラム陰性、好気性の短桿菌で運動性が認められず、チトクロームオキシダーゼおよびカタラーゼ陽性で炭水化物分解能なく、ペニシリンに感受性を有するなど、明らかにgenus *Moraxella*に属するものと認められた菌株は分離菌株

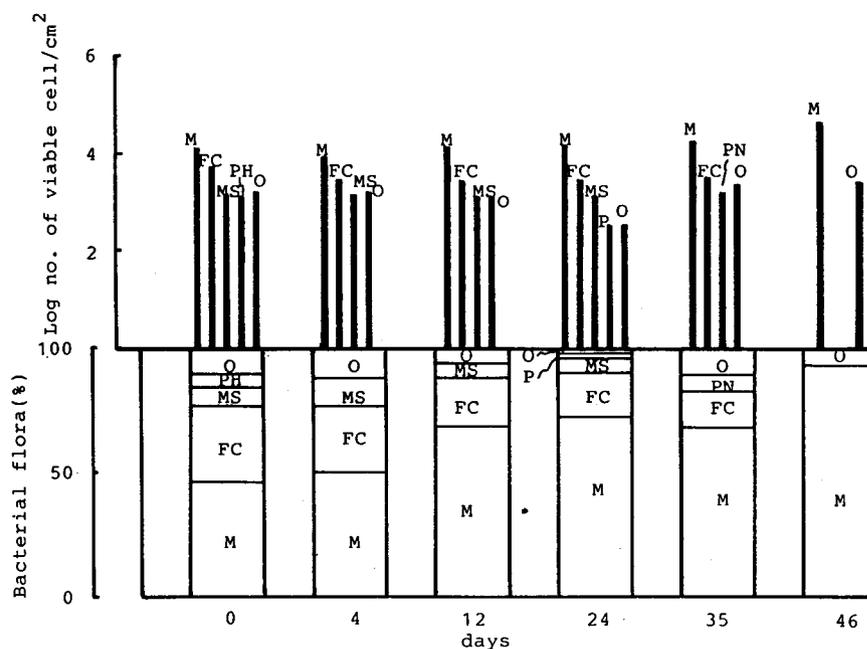


Fig. 9. Changes in bacterial flora of mackerel during storage at -3°C partial freezing (brine immersion).

Others contain *Vibrio*, *Acinetobacter* and unidentified bacteria.

P; *Pseudomonas* I/II

PN; *Pseudomonas* III/IV-NH

PH; *Pseudomonas* III/IV-H

FC; *Flavodacterium/Cytophaga*

M; *Moraxella*

MS; *Micrococcus + Staphylococcus*

O; Others

1350 株中最も多く 744 株を数えた。なお、グラム陰性、好気性の短桿菌で運動性が認められず炭水化物の分解能もみられないなど genus *Moraxella* に類似するが、チトクロームオキシダーゼ陰性、好塩性およびペニシリンに対する感受性の点で genus *Moraxella* とは異なり、genus *Acinetobacter* に分類された菌株が 20 株認められた。Shewan^{14)~15)} はグラム陰性桿菌で炭水化物分解能がなく、黄色あるいは橙色の非水溶性色素を産生する菌群を *Flavobacterium/cytophaga* (以下 F/C と記す) グループとして一括しているが、このグループに属するものは分離菌株中 188 株であった。さらに 11 株はグラム陰性で単極毛を有しチトクロームオキシダーゼ、カタラーゼともに陽性で、明らかに嫌気的条件下においてグルコースの分解能を示すなどの性状から genus *Vibrio* に分類された。分離菌株 1350 株中、明らかに球菌と認められたものは 59 株で、グラム染色性、好気および嫌気的条件下におけるグルコースの分解能の有無、カタラーゼ産生能などから 44 株が genus *Staphylococcus* に、15 株が genus *Micrococcus* に分類された。分類し得なかった菌株が 55 株認められたが、これら 55 株はその形態学的、生化学的および生物学的諸性状から genus *Moraxella* および genus *Acinetobacter* に類似する菌株と推察されたが、グラム染色性およびペニシリンに対する感受性の点で前記 2 属と異なる菌株であった。以上の結果はまとめて Table 1, 2 に示したが、魚体表面の微生物の分布についてはその 95% 以上がグラム陰性桿菌で占められ、このような傾向は諸家^{25)~27)} の説と一致する結果であった。

3. 細菌相の変遷

前記した各種温度貯蔵中の供試魚から分離した 1350 株についての属レベルでの分類結果を基

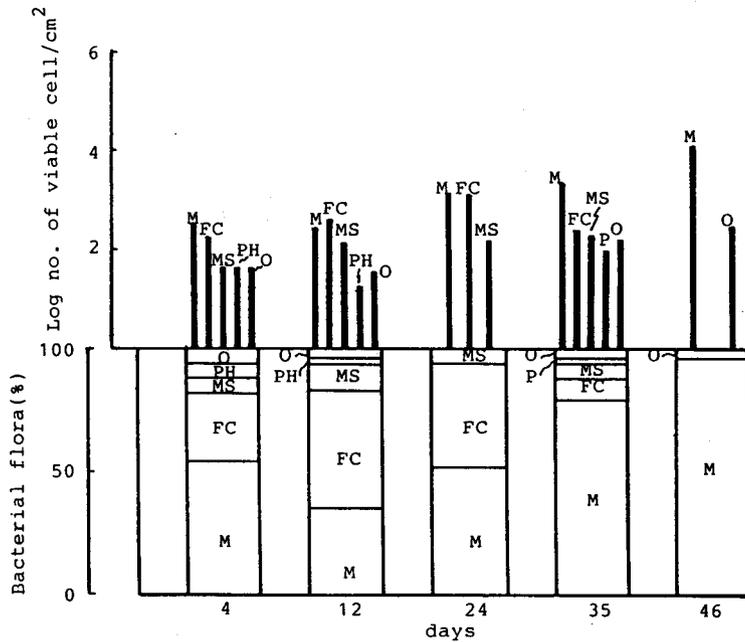


Fig. 10. Changes in bacterial flora of brine solution.
 Others contain *Vibrio*, *Acinetobacter* and unidentified bacteria.
 P; *Pseudomonas* I/II PH; *Pseudomonas* III/IV-H
 M; *Moraxella* FC; *Flavobacterium/Cytophaga*
 O; Others MS; *Micrococcus* + *Staphylococcus*

にして、各温度貯蔵中における供試魚の菌相の変遷を検討し、その結果を Fig. 6-11 に示した。

1) 25°C 貯蔵

この資料についてのみ、試料魚の捕獲時期が異なったものを用いた。この試料は2日後において明らかに腐敗現象を示したが貯蔵直前の菌相中で優位を占めた *Pseudomonas* III/IV-NH が2日後も優勢で、その他では *Moraxella* および *Pseudomonas* I/II が主な菌相構成菌であった。結果は Fig. 6 に示した。

2) 0°C 貯蔵

貯蔵初期に46%程度の菌相割合を示した *Moraxella* が徐々に増加し、Fig. 7 に示すように8日目では92%という高い値を示したが、以後漸減し、初期腐敗の段階である15日目にはほとんど観察されなくなり、替って *Pseudomonas* III/IV-NH および *Pseudomonas* I/II が25°C 貯蔵の場合と同様に菌相の大部分を占めた。

3) -3°C 貯蔵

エアープラスト区では Fig. 8 に示すように0°C の場合と同様貯蔵初期から優勢であった *Moraxella* が24日目では92%と菌相構成菌の大部分を占めたが、35日目ではその割合が27%に減少し、替って *Pseudomonas* III/IV-H が優勢(70%)になり、弱い腐敗臭が感ぜられる46日後では *Pseudomonas* III/IV-H が観察されず、*Pseudomonas* I/II が優位(90%)を占め PF 法における試料の腐敗段階での優勢菌が *Pseudomonas* I/II であることは奥積ら⁹⁾の報告と一致する結果であった。また、25°C および0°C 貯蔵の試料の腐敗段階で優位を占めた *Pseudomonas* III/IV-NH が

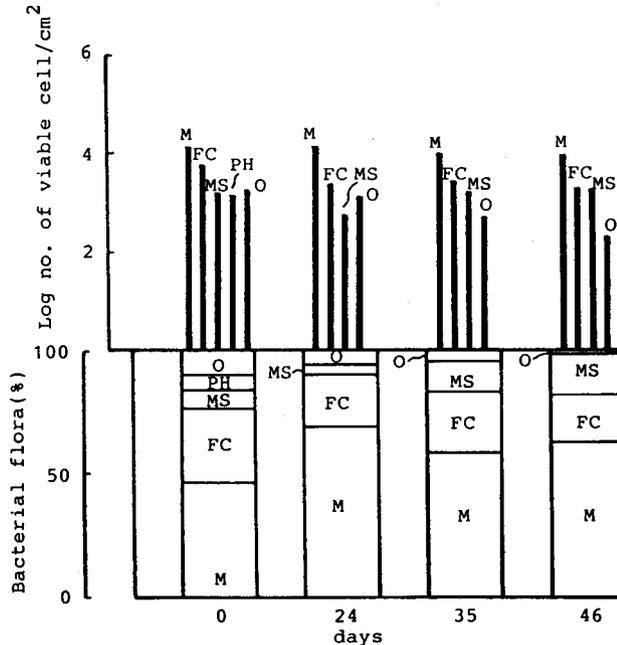


Fig. 11. Changes in bacterial flora of mackerel during storage at -20°C. Others contain *Vibrio*, *Acinetobacter* and unidentified bacteria. PH; *Pseudomonas* III/IV-H FC; *Flavobacterium*/*Cytophaga* M; *Moraxella* MS; *Micrococcus* + *Staphylococcus* O; Others

PF法のエアースラスト区で菌相中に全くみられなかったことはこの種細菌が -3°C という環境温度および液相から固相への相変化に対応し得なかったものと考えられた。一方、ブライン浸漬区ではエアースラスト区と同様 *Moraxella* と F/C が貯蔵初期の主な優勢菌であったが Fig. 9 に示す如く、日数の経過と共に *Moraxella* の割合が増加し、46 日目には菌相の大部分が *Moraxella* で占められるに至った。なお、ブライン溶液中の菌相変遷はブライン浸漬区の試料の場合と同様な傾向を示した (Fig. 10)。

4) -20°C 貯蔵

貯蔵初期の菌相は *Moraxella* が優勢で、次いで F/C, *Staphylococcus* および *Micrococcus* が主要菌構成菌であったが、46 日後においてもこのような傾向に変化は認められなかった (Fig. 11)。

要 約

1. -3°C PF法のエアースラスト区およびブライン浸漬区における貯蔵試料の生菌数は46日後も貯蔵初期の生菌数(約 $10^4/\text{cm}^2$)に比較してほとんど変化は認められず、またK-値、TMA-NおよびVB-Nなどの測定値も 25°C および 0°C 貯蔵試料に比較してPF法による貯蔵試料の方が低い値を示した。
2. 各種温度における貯蔵試験試料の最終段階での菌相中で優位を占めた菌は 25°C および 0°C では *Pseudomonas* III/IV-NH、 -3°C エアースラスト区では *Pseudomonas* I/II、 -3°C ブライン浸漬区、ブライン溶液および -20°C では *Moraxella* で、貯蔵温度によって優勢種の異なることが観察された。
3. 貯蔵試料の肉質への食塩およびエタノールの浸透量は2週間後で共に1%以下であった。

文 献

- 1) Uchiyama, H. and Kato, N. (1974). Partial freezing as a means of preserving fish freshness-I. Changes in free amino acids, TMA-N, ATP and its related compounds and nucleic acids during storage. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **40**, 1145-1154.
- 2) Kato, N., Umemoto, S. and Uchiyama, H. (1974). Partial freezing as a means of preserving the freshness of fish-II. Changes in the properties of protein during the storage of partially frozen sea bass muscle. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **40**, 1263-1267.
- 3) 内山 均・江平重男・内山つね子 (1978). Partial freezingによる養殖コイの鮮度保持—活魚輸送に代る方法として—。東海水研報, **94**, 105-118.
- 4) 内山 均・江平重男・角田聖齊・内山つね子・中村寿夫・内田洋二 (1980). 水産半乾製品(水分約70%)およびウナギ白焼の長期新貯蔵法。東海水研報, **102**, 31-49.
- 5) 内山 均・江平重男・内山つね子・増沢 一 (1978). Partial freezingによるエジマスの鮮度保持。東海水研報, **95**, 1-14.
- 6) 奥積昌世・清水達也・松本 明 (1980). Partial freezingによる貯蔵海産魚の細菌フローラ。日水誌, **46**(4), 451-454.
- 7) Shigeo, E. and Tateo, T. (1980). Changes in viable bacterial count of sardine during partially frozen storage. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **46**, 1419.
- 8) 角田聖齊・内山 均 (1980). Partial freezingによる水産物の貯蔵。 -3°C 貯蔵中の細菌死滅機構について。昭和55年度日本水産学会秋季大会講演要旨, 154.
- 9) 山形 誠 (1974). 水産生物化学・食品学実験書, 281 p, 恒星社厚生閣, 東京.
- 10) 内山 均・小林 宏 (1974). 同上, 267 p.
- 11) 前田安彦 (1975). 食品分析法 (4), 94 p, 弘学出版, 東京.
- 12) 前田安彦 (1975). 同上, 79 p.
- 13) Lyman, J. and Fleming, R.H. (1940). Composition of sea water. *J. Marine Res.*, **3**, 134-146.
- 14) Shewan, J.M., Hobbs, G. and Hodgkiss, W. (1960). A determinative scheme for the

趙ら：魚類のPartial Freezing

- identification of certain genera of gram-negative bacteria, with special reference to the *Pseudomonadaceae*. *J. Appl. Bact.*, **23**, 379-390.
- 15) Shewan, J.M., Magaret, S.H. and Hodkiss, W. (1964). *Annals de l' Institut Pasteur de Lille*, **15**, 43 p.
 - 16) 奥積昌世・堀江 進・木村正幸・赤堀正光・川前政幸 (1973). 冷蔵海産魚の腐敗細菌 (第3報). グラム陰性桿菌の群別について. *食衛誌*, **14**, 81-89.
 - 17) Bauman, P., Doudoroff, and Stanier, R.Y. (1968). A study of the *Moraxella* Group-II. Oxidative-negative species (Genus *Acinetobacter*). *J. Bact.*, **95**, 1520-1541.
 - 18) Baird-Parker, A.C. (1963). A classification of *Micrococci* and *Staphylococci* based on physiological and biochemical tests. *J. gen. Microbiol.*, **30**, 409-427.
 - 19) Baird-Parker, A.C. (1965). The classification of *Staphylococci* and *Micrococci* from world-wide source. *J. gen. Microbiol.*, **38**, 363-387.
 - 20) Corlett, D.A., Lee, J.S. and Sinnhuber, R.O. (1965). Application of replica plating and computer analysis for rapid identification of bacteria in some food. *Appl. Microbiol.*, **13**, 818.
 - 21) Kovacs, N. (1956). Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction. *Nature*, **178**, 703.
 - 22) Hugh, R. and Leifson, E. (1953). The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram negative bacteria. *J. Bact.*, **66**, 24-26.
 - 23) Tittsler, R.P. (1930). The reduction of nitrates to nitrites by *Salmonella gallinarum*. *J. Bact.*, **19**, 261-267.
 - 24) Castell, C.H. and MacCallum, W.A. (1950). The value of temperature close to freezing on the storage of fish. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **8**, 111-116.
 - 25) Shaw, B.G. and Shewan, J.M. (1968). Psychrophilic spoilage bacteria of fish. *J. Appl. Bact.*, **31**, 89-96.
 - 26) Lerke, P., Adams, R. and Farber, L. (1963). Bacteriology of spoilage of fish muscle-I. Sterile press juice as a suitable experimental medium. *Appl. Microbiol.*, **11**, 458-462.
 - 27) Adams, R., Farber, L. and Lerke, P. (1964). Bacteriology of spoilage of fish muscle-II. Incidence of spoilers during spoilage. *Appl. Microbiol.*, **12**, 277-279.