



Title	塩辛の細菌學的研究：第3報 塩辛熟成中に於ける細菌數の變化に就て
Author(s)	長尾, 清; NAGA0, Kiyoshi
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 2(2), 145-150
Issue Date	1951-09
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/22711
Type	departmental bulletin paper
File Information	2(2)_P145-150.pdf



塩辛の細菌學的研究

第3報 塩辛熟成中に於ける細菌數の變化に就て

長 尾 清 (水産細菌學教室)

BACTERIOLOGICAL STUDIES OF SHIOKARA OR "SOUSED SQUID"

3. ON THE VARIATIONS OF NUMBER OF BACILLI IN SHIOKARA DURING ITS RIPENING.

Kiyoshi NAGAO

(Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

In previous reports^(1), 2) the writer has explained that the ripening of SHIOKARA was caused whether by autolyzing enzymes or by bacterial action, and he also has written about the kinds of bacilli and the chemical changes during the ripening.

In this paper, the writer wishes to report the difference of the numbers of bacteria found in SHIOKARA which was manufactured by using hot air sterilized salt and non-sterilized salt. The results obtained were as follows:

(1) The maximum numbers of colonies on the plate agar-agar media containing 5, 10, 15 and 20% of NaCl respectively at 35°C and 25°C were obtained after 3 days. This is different from the results obtained by investigators of past time. This is supposed to be due to the use of vessel of 70% moisture in which 33% H₂SO₄ was put, for the cultivation of bacteria in SHIOKARA.

(2) The results of the comparison of use of hot air sterilized salt and non-sterilized salt for the ripening of SHIOKARA, show that the number of bacilli present in the raw material influenced the growth of bacilli in SHIOKARA, although the initial growth of bacilli was slow by addition of the salt.

(3) From the observation of the relation of ripening and the number of bacilli, the ripening by the bacterial action was found to have taken place after 20 days fermentation.

1 緒 言

著者は第1報⁽¹⁾に於て塩辛の熟成は自家消化酵素に依るか、細菌の作用に依るかを比較し、製造後 20 日間位迄は主として自家消化酵素作用に依るものである事、及び塩辛中に生存している細菌の種類に就て *Bac. mycoides* Flügge 以下 8 種の細菌に就て報告した。第2報⁽²⁾に於ては熟成中に於

ける成分の變化に就て報告した。

本報に於ては、塩辛調製に使用する食塩を、一方は乾熱殺菌し、他方は乾熱殺菌しないで用い、別々に常法に依り塩辛を調製し、20°Cの恒温器中に置いて塩辛を熟成させた。この熟成の期間中數回に亘つて、一定量の試料（塩辛の液汁）をとり、種々な分量に食塩を含有させた寒天培養基に接種し、35°及び25°Cの恒温器中で培養した。この細菌培養中の細菌集落數の變化及び塩辛熟成期間中の細菌數の變化を測定した。塩辛中の細菌數を測定する際、塩辛には肉質と液汁とあるので、塩辛全體を可及的均一になる様攪拌し、液汁の部分の細菌數を測定した。乾熱殺菌した食塩を使用した場合と、普通の食塩を使用した場合とで食塩に來源する細菌が、塩辛の熟成中如何様な變化をなすかを比較検討し、併せて塩辛熟成の現象を細菌數の見地から考察した。

2 試料及び實驗方法

1. 試料

(1) 乾熱殺菌しない普通の食塩を使用した試料

市販の塩辛を作る方法に従つて、細斷したスルメイカ肉片 1.0kg に食塩 150g（日本藥局法）及び肝臟 50g を混合し、良く攪拌後、試料採取の便宜上 15% 食塩水 100c.c. を添加、良く攪拌し、殺菌した硝子容器に入れた。之を 20°C の恒温器中に置き、實驗期間中 1日 1回、可及的無菌的に良く攪拌した。

(2) 乾熱殺菌した食塩を使用した試料

食塩 150g を秤量し、160°~180°C で 2 時間乾熱殺菌したものを前記試料調製の場合と同量使用した。

2. 細菌數測定法

乾熱殺菌しない食塩を使用した試料と、乾熱殺菌した食塩を使用調製した試料に就いて熟成期間中數回に亘り細菌數を 10 進稀釋法に依り測定した。

培養基として寒天培養基に次の如き割合に食塩を加えたものを使用し、之等培養基に 10 倍稀釋法に依り稀釋した試料を夫々 1c.c. づゝ加え、殺菌シャーレに注いで凝固させる。1つの試料に就て、1回の實驗に、5, 10, 15 及び 20% 食塩を含む寒天培養基夫々 5 本づつ計 20 本を 1 組とし、35°C の恒温器中で培養するもの 2 組、25°C の恒温器で培養するもの 2 組、計 4 組を作る。之等を扁平培養する際氣濕を一定にする爲に、硫酸（濃度 33%、比重 1.25）を入れた假底を有する容器中（氣温 70%）に入れ 35° 及び 25°C の恒温器中にて培養⁽³⁾、培養期間中各培養基に發育してくる集落數の變化——或る程度培養基に發育してくる細菌の發育速度を示す——を測定し、又熟成日數別の試料中の細菌數は夫々の食塩濃度の培養基上の最大集落數を採用し、熟成中に於ける變化をみた。

3 實驗結果

1. 35°Cの恒温器中で培養した場合

第 1 表は乾熱殺菌した食塩を使用した試料と、普通の食塩を使用した試料に就て、培養温度 35°C にて培養した場合の細菌集落數の變化を示したものである（試料 1c.c. 中の細菌數）。

熟成日數別の試料中の細菌數は夫々の食塩濃度の培養基上の最大集落數を採用し、熟成中に於ける細菌數の變化を示せば第 2 表の如くなる。

Table 1. The variations shown in the colonies for the period of cultivation (The ripening was done at 20°C, the bacteria were cultivated at 35°C) (number of bacilli in a sample 1 c.c.).

Unit : $\times 10^4$

Days of Ripening		1					8					12				
Days of Cultivating		3	6	10	14	25	3	6	10	14	25	3	6	10	14	20
5% NaCl broth agar	Sterilized salt	8	9	9	9	9	9	10	10	10	10	12	12	12	12	12
	Common salt	12	13	14	14	14	10	11	11	12	12	98	102	110	113	113
10% NaCl broth agar	Sterilized salt	8	9	9	9	9	5	5	6	6	6	21	21	22	38	38
	Common salt	8	9	9	9	9	15	21	24	27	27	147	150	156	168	172
15% NaCl broth agar	Sterilized salt	5	6	6	6	6	3	3	3	4	4	8	9	39	58	58
	Common salt	5	6	7	7	7	3	4	4	4	4	96	142	142	154	160
20% NaCl broth agar	Sterilized salt	4	5	5	5	5	1	2	2	3	3	4	5	5	5	10
	Common salt	4	5	6	7	7	3	3	4	4	4	54	102	143	198	198

Continued

Days of Ripening		16					19					23					
Days of Cultivating		3	6	9	14	21	3	6	9	14	21	3	6	9	13	25	32
5% NaCl broth agar	Sterilized salt	224	243	243	243	250	1091	1118	1118	1120	1120	665	668	671	671	671	671
	Common salt	—	—	—	—	—	1820	1850	1860	1860	1860	4160	4230	4230	4230	4230	4230
10% NaCl broth agar	Sterilized salt	190	195	214	214	214	820	865	932	933	933	407	408	436	443	443	443
	Common salt	173	179	201	207	209	1760	1790	1790	1790	1790	4230	4340	4360	4370	4370	4370
15% NaCl broth agar	Sterilized salt	110	211	216	216	224	647	647	647	647	650	310	334	334	363	363	363
	Common salt	146	149	168	171	172	1934	1962	1983	1983	2000	3780	3810	3810	3820	3820	3820
20% NaCl broth agar	Sterilized salt	149	157	165	171	173	245	253	266	266	266	272	316	316	334	344	344
	Common salt	112	121	135	140	140	1800	1830	1840	1840	1850	582	934	1050	1060	1080	1080

Continued

Days of Ripening		23	26				33				41					
Days of Cultivating		48	3	6	9	14	20	3	6	9	14	20	3	6	9	14
5% NaCl broth agar	Sterilized salt	671	—	—	—	—	—	3360	3380	3410	3410	3410	—	—	—	—
	Common salt	4230	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2260	2340	2350	2350
10% NaCl broth agar	Sterilized salt	443	1485	1485	1510	1520	1530	1550	1620	1740	1740	1750	5260	5340	5470	5470
	Common salt	4370	6060	6110	6250	6410	6450	4560	4740	4740	4740	4740	3180	3180	3180	3180
15% NaCl broth agar	Sterilized salt	363	1406	1410	1410	1410	1420	1150	1750	1750	1750	1750	4910	5930	5980	5980
	Common salt	3820	5940	5980	6010	6070	6070	5160	5190	5270	5270	5320	4040	4040	4080	4080
20% NaCl broth agar	Sterilized salt	344	1080	1150	1180	1210	1230	1427	1463	1502	1502	1515	2460	3210	3480	3480
	Common salt	1080	4860	4890	4910	4990	5120	3240	3370	3450	3580	3592	5150	2290	2470	2470

Table 2. The variations of numbers of bacilli in SHIOKARA during its ripening.
(The ripening was done at 20°C, and the bacteria were cultivated at 35°C)
(numbers of bacilli in a sample 1 c.c.)

Unit : $\times 10^4$

Days of Ripening		1	8	12	16	19	23	26	33	41
5% NaCl broth agar	Sterilized salt	9	10	12	250	1120	671	—	3410	—
	Common salt	14	12	113	—	1860	4230	—	—	2350
10% NaCl broth agar	Sterilized salt	9	6	38	214	933	443	1530	1750	5470
	Common salt	9	27	172	209	1790	4370	6450	4740	3180
15% NaCl broth agar	Sterilized salt	6	4	58	224	650	363	1420	1750	5980
	Common salt	7	4	160	172	2000	3820	6070	5320	4080
20% NaCl broth agar	Sterilized salt	5	3	10	173	266	344	1230	1515	3480
	Common salt	7	4	198	140	1852	1080	5120	3592	2470

Table 3. The variations shown in the colonies for the period of cultivation. (The ripening was done at 20°C, the bacteria were cultivated at 25°C) (numbers of bacilli in a sample 1 c.c.)

Unit : $\times 10^4$

Days of Ripening		1					8					12				
Days of Cultivating		3	6	10	14	25	3	6	10	14	25	3	6	10	14	20
5% NaCl broth agar	Sterilized salt	5	5	6	6	6	—	—	—	—	—	41	99	99	101	101
	Common salt	7	7	7	10	10	—	—	—	—	—	361	679	682	718	718
10% NaCl broth agar	Sterilized salt	3	3	3	3	3	1	7	7	7	7	11	11	13	13	13
	Common salt	8	8	8	9	9	3	15	21	21	22	89	106	114	128	128
15% NaCl broth agar	Sterilized salt	3	3	3	3	3	0	0	3	3	3	1	2	5	5	5
	Common salt	3	5	5	5	5	0	0	0	0	1	14	85	87	97	97
20% NaCl broth agar	Sterilized salt	2	2	3	3	3	0	0	2	2	2	0	2	2	3	3
	Common salt	2	3	3	4	4	0	2	2	2	3	0	68	75	81	81

Continued

Days of Ripening		16					19					23					
Days of Cultivating		3	4	6	14	21	3	6	9	14	21	3	6	9	14	25	32
5% NaCl broth agar	Sterilized salt	220	298	309	309	315	1000	1020	1040	1040	1070	816	816	816	816	816	816
	Common salt	150	169	180	189	192	1930	1930	1970	1970	1970	2860	2870	2870	2870	2870	2870
10% NaCl broth agar	Sterilized salt	170	174	187	187	187	1020	1040	1050	1060	1060	350	352	352	364	364	364
	Common salt	150	161	171	184	185	1560	1580	1590	1590	1620	2280	2280	2280	2290	2290	2290
15% NaCl broth agar	Sterilized salt	100	103	108	109	112	519	531	604	604	608	315	336	337	353	353	353
	Common salt	18	115	121	125	125	1010	1030	1030	1030	1030	1390	1410	1410	1410	1410	1410
20% NaCl broth agar	Sterilized salt	0	55	56	57	57	348	375	383	383	388	284	331	331	331	331	331
	Common salt	0	105	109	158	163	309	327	330	339	339	49	1470	1470	1470	1470	1470

Continued

Days of Ripening		23		26				33				41				
Days of Cultivating		48	3	6	9	14	20	3	6	9	14	20	3	6	9	14
5% NaCl broth agar	Sterilized salt	816	2160	2180	2200	2210	2210	3240	3260	3290	3290	3310	4910	4910	4970	4970
	Common salt	2870	5160	5190	5250	5290	5310	5040	5040	5040	5040	5070	2870	2910	2930	2930
10% NaCl broth agar	Sterilized salt	364	1120	1210	1270	1210	1230	1500	1590	1720	1720	1730	2490	3520	3750	3750
	Common salt	2290	4920	4980	5120	5260	5290	4980	5130	5130	5130	5170	2080	3670	3670	3670
15% NaCl broth agar	Sterilized salt	353	986	1360	1370	1380	1380	1020	1650	1650	1650	1690	2480	2750	2750	2840
	Common salt	1730	4320	4380	4380	4410	4410	4860	4890	4780	4980	4980	2170	2960	3040	3040
20% NaCl broth agar	Sterilized salt	331	945	1340	1340	1340	1340	1380	1420	1600	1600	1630	2240	2680	2810	2870
	Common salt	1470	195	4860	4880	4890	4890	250	2940	3120	3210	3220	1420	1740	3280	3280

Table 4. The variations of number of bacilli in SHIOKARA during its ripening. (The ripening was done at 20°C, and cultured in the thermostat kept at 25°C) (number of bacilli in a sample 1 c.c.)

Unit : $\times 10^4$

Days of Ripening		1	8	12	16	19	23	26	33	41
5% NaCl broth agar	Sterilized salt	6	—	101	315	1070	816	2210	3310	4970
	Common salt	10	—	718	192	1970	2870	5310	5070	2930
10% NaCl broth agar	Sterilized salt	3	7	13	187	1060	364	1230	1730	3750
	Common salt	9	22	128	185	1620	2290	5290	5170	3670
15% NaCl broth agar	Sterilized salt	3	3	5	112	608	353	1380	1690	2840
	Common salt	5	1	97	125	1030	1730	4410	4980	3040
20% NaCl broth agar	Sterilized salt	3	2	3	57	388	331	1340	1630	2870
	Common salt	4	3	81	163	339	1470	4890	3220	3280

2. 25°C の恒温器中で培養した場合

第3表は第1表の場合と同様に、培養温度 25°C にて行つた場合の細菌集落数の変化を示したものである (試料 1c.c. 中の細菌数)。

第4表は第2表の場合と同様に、塩辛熟成中に於ける細菌数の変化を示したものである (試料 1c.c. 中の細菌数)。

4 考 察

一般に食塩細菌は發育が非常に緩慢であつて、發育が確認される様になるまでには 20~60 日間要し、最も發育力の旺盛なものでも約 10 日間を経なければ發育した事がわからない⁽⁴⁾と云はれて居るが、著者の實驗結果では第1表及び第3表に示した様に、食塩を含有させた寒天培養基に 35° 及び 25°C いづれの培養温度の場合も、3日間培養によつて殆ど最大の集落数を示した。即ち著者の第1報に記した實驗においては、20 及び 30% の食塩を含む寒天培養基を使用し、そのまま恒温器中で扁平培養したので、37°C, 20日間培養にても集落が表はれなかつたが、今回の實驗では培養の際、空氣の乾燥を防止する爲に 33% 硫酸を入れた假底を有する容器中に接種シャーレーを入れて培養した爲發育が良好であつた。

次に乾熱殺菌した食塩を使用した試料と、乾熱殺菌しない普通の食塩を使用した試料の熟成中に於ける細菌数の變化を比較して見ると、普通の食塩を使用した試料は 35° 培養及び 25° 培養いづれの場合に於ても、試料調製後 16~19 日迄は試料中の細菌増殖は緩慢であるが、19 日以後増殖速度は急激に増大し、試料調製後約 26 日にて生存する細菌数は最大となるが、其れ以後細菌数は次第に減少する。乾熱殺菌した食塩を使用した試料は 35° 培養及び 25° 培養のいづれの場合に於ても、23~26 日迄は試料中の細菌増殖は緩慢であるが、其れ以後増殖速度は急激に増大し、約 41 日にて普通の食塩を使用した試料の最大細菌数とほぼ同数となつた。換言すれば、塩辛中に於ては多量の食塩が添加されているので細菌の増殖は極めて緩慢であるが、初に存在する細菌数が、塩辛中の細菌の増殖速度にかなり影響を及ぼしている事が解つた。

次に塩辛の熟成現象を細菌数の見地から考察すると、著者が第 1 報⁽¹⁾、第 2 報⁽²⁾ に於て報告した様に、蛋白質の分解に依るアミノ態窒素の増加は塩辛調製後 9~12 日位迄急速であるが、この期間中の塩辛中の細菌数の増加は緩慢であり、従つて細菌の生化學的作用は微弱であると思はれる。故にこの期間に於ける熟成は主として自家消化酵素に依り起り、それ以後 20 日位迄はアミノ態窒素の増加もなく殆ど一定である。20 日以後においてはアミノ態窒素は又増加するが、これは塩辛中の細菌が調製後 20 日位より急激に増加して居るので、20 日以後に於ける變化は主として細菌の作用に依るものであると思はれる。

5 總 括

1. 塩辛中の細菌を、5, 10, 15 及び 20% の割合に食塩を含有する寒天培養基を用い、35° 及び 25°C の恒温器中に培養すれば、約 3 日間培養にて殆ど最大の集落数を示した。これは接種培養基を氣温 70% の容器に入れて培養した爲である。

2. 乾熱殺菌した食塩を使用した塩辛と、乾熱殺菌しない普通の食塩を使用した塩辛の熟成中に於ける細菌数の變化を比較した。塩辛に多量の食塩が添加されているので、細菌の増殖速度は極めて緩慢であるが、初めに存在する食塩細菌数が塩辛中の細菌の増殖速度にかなり影響がある。

3. 塩辛の熟成現象を細菌数の見地から考察したが、細菌の作用に依る熟成は、20 日以後に於て行はれる事が解つた。

終りに本研究は、當教室の宮崎誠一氏の助力を得た。記して謝意を表する。

6 文 献

- (1) 長尾、木村 (1949): 水産學雜誌、54, 21.
- (2) 長尾、木村 (1951): 北海道大學水産學部研究彙報 Vol. 1, No. 2, 81.
- (3) 谷川 英一 (1949): 水産細菌學 p. 363.
- (4) 木俣 正夫 (1949): 食品保藏學 p. 301.

(水産科學研究所業績 第 82 號)