HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	いか塩辛の微生物学的研究－IV：各種細菌を接種したいか塩辛の菌相変化
Author(s)	森, 勝美; 信濃, 晴雄; 秋場, 稔
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 34(4), 355-360
Issue Date	1983-12
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/23840
Type	departmental bulletin paper
File Information	34(4)_P355-360.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

北大水産彙報
34(4). 355–360. 1983.

いか塩辛の微生物学的研究-IV
各種細菌を接種したいか塩辛の菌相変化

森　勝美*・信濃　晴雄**・秋場　稔**

Studies on the Microorganisms in Salted and Ripened Squid Meat Product ("Ika-Shiokara")-IV
Microflora of "Ika-Shiokara" inoculated with several kinds of bacteria

Katsumi MORI*, Haruo SHINANO** and Minoru AKIBA**

Abstract

Four bacteria belonging to the genus *Staphylococcus*, *Micrococcus* and Family Vibrionaceae, isolated from "Ika-Shiokara" and stale squid meat (Table 1–1, Table 1–2), were inoculated into four "Ika-Shiokara" samples to which was added to 10% salts and 5% liver juices by weight. The bacteria accounted for about 50% of the microflora in those "Ika-Shiokara" just after preparation. Throughout the experimental period (25°C), the changes in microflora and viable bacterial counts in the inoculated "Ika-Shiokara" were investigated in relation to sensuous quality.

The results obtained can be summarized as follows:

1. Of five samples A-E (Sample E is a controlled sample), inocula of samples B, C and D disappeared form the composed members of microflora between the 5th and 17*th* day and a strain of *Staphylococcus* subgroup II recognized as the dominant bacteria in the controlled "Ika-Shiokara" replaced the inocula of samples B and D as dominant (Fig. 1).
2. In the case of sample C, all bacteria except the four kinds employed in this experiment maintained a superior position in the microflora after the 17*th* day.
3. The inocula in sample A predominated in the microflora throughout the experimental period.
4. A marked difference in the suitable periods for eating was not observed among the samples A, B, D and E. However, the suitable period for sample C was shorter than for the other samples.
5. *Staphylococcus* subgroup II, which developed a tendency to become dominant in microflora of tested "Ika-Shiokara" samples throughout the ripening process, may be able to grow to fit the circumstance of the "Ika-Shiokara".

* 農林水産省食品総合研究所微生物資源研究室
(Laboratory of Microbial Resources, National Food Research Institute, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries)
** 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)

緒　　言

本研究第2報[1]では，用塩量10%，15%および20%のいか塩辛の熟成過程（熟成温度，25°C）における好気性細菌数および菌相の変化を検討し，用塩量の多少にかかわらずその熟成過程における優勢種はBaird-Parkerの分類法[2-5]による *Staphylococcus* subgroup IIであることを報告した。

この *Staphylococcus* subgroup IIが塩辛中で優位を占めるのは，*Staphylococcus* subgroup IIの増殖が他菌種よりも旺盛であること，すなわちいか塩辛自体の環境が当該菌にとってより好適であることが推察される。本報ではその確認のために，用塩量10%のいか塩辛について，その仕込み直後に *Staphylococcus* subgroup II以外の細菌を，その菌相中での比率が約50%以上になるように接種し，その後のいか塩辛熟成中の菌相の変化を観察した。なおまた，いか塩辛中における細菌の増殖因子の一つとして重要視される各供試菌の耐塩性についても検討を行った。

実 験 方 法

供試いか塩辛の作製法

前報[1]と同様の方法で，用塩量10%(w/w)，肝臓臓量5%(w/w)のいか塩辛を作製し供試した，なお，熟成は25°Cで行った。

供 試 菌

供試菌としては前報[1]で作製されたいか塩辛あるいは腐敗いか肉から分離されたものの中から5株を選定したが，それらの由来および主要性状は Table 1-1 および Table 1-2 に示したとおりである。

Table 1-1. The origin and characters of strains employed

	Bacterial group	*S**. subgroup II	*S*. subgroup II like	*M*** . subgroup 7
	Strain No.	S-1	S-2	M-1
	Origin	Ika-Shiokara, dominant	Ika-Shiokara, not dominant	Ika-Shiokara, not dominant
Characters	Shape	coccal	coccal	coccal
	Motility	−	−	−
	Gram stain	+	+	+
	Catalase	+	+	+
	Acid produced from glucose:			
	anaerobically	+	+	−
	aerobically	+	+	−
	Acetoin	+	+	
	Phosphatase	+	+	
	Coagulase	−	−	
	Acid produced anaerobically from:			
	Arabinose	−	−	−
	Glycerol			−
	Lactose	+	−	−
	Maltose	+	+	−
	Mannitol	−	−	−
	Xylose			−
	Hydrolysis of:			
	Lard	+	+	
	Butter	+	+	
	Ammonia produced from arginine			−

*: *Staphylococcus*　**: *Micrococcus*　+: positive　−: negative

Table 1–2. The origin and characters of strains employed

	Bacterial group Strain No. Origin	Vibrionaceae V–1 Stale squid meat	Vibrionaceae V–2 Stale squid meat
Characters	Shape	Rod	Rod
	Flagellation		Polar
	Spore formation	−	−
	Gram stain	−	−
	Pigments production	−	−
	Motility	−	+
	Glucose fermentation	+	+
	Oxidase (Kovacs)		+

+: positive　　−: negative

これら5菌株中，S-1株を除いた4株をそれぞれ塩辛の仕込み当初の菌相中で約50%以上を占めるように接種したもの，および対照として細菌を接種せず普通に熟成を行ったものの計5種の塩辛を作製し，熟成中の菌相の変化ならびに官能的観察を行った。なお，S-2株，M-1株，V-1株およびV-2株接種いか塩辛をそれぞれ試料A，B，CおよびDとした。S-1株についてはこの菌株が通常の菌非接種の塩辛中においてすでに仕込み当初からその菌相中で50%以上を占めることから，これをS-1株接種相当試料とし，あえてS-1株は接種しなかった。なお，これを対照試料とし試料Eとして扱った。

官能的観察法

前報[1]の場合と同様に主として呈味および可食期間について観察した。

生菌数測定法

いか塩辛が高濃度の食塩および有機物を含むことを考慮し，厚生省衛生検査指針[6]による標準寒天培地にさらに0.3%の肉エキスおよび3%の食塩を添加した組成の培地を用い，5種類の試料の液汁について平板塗抹法（30°C，3日間）で生菌数を測定した。

分離菌の同定

前報[1]と同様にBaird-Parkerの分類方法[2-5]で行った。

耐塩性の測定法

各供試菌の耐塩性はペプトン0.5%，酵母エキス0.25%，グルコース0.1%の基礎培地に食塩を各々0，5，8，10，15および18%（pH6.8～7.0）の割に添加したブイヨン培地に各供試菌を接種し，その増殖の有無（30°C，8日間培養）により決定した。

結果および考察

いか塩辛試料の官能的観察結果

試料A（S-2株接種），試料B（M-1株接種），試料D（V-2株接種）および試料E（対照）の4試料は共に仕込み後5日目において食用に適した状態に至り，以後もその状態で推移したが，いずれも25日目には異臭が感じられ食用には不適と認められた。なお，試料C（V-1株接種）については仕込み後5日目に食用に適した状態になったが，他の4試料と異なり17日目に至り早くも異臭が感じられ，食用に不適となる時期が早かった。

いか塩辛試料の生菌数および菌相の変化

試料A～Eの熟成中における生菌数および菌相の変化はFig. 1に示した。生菌数は試料A～Eと

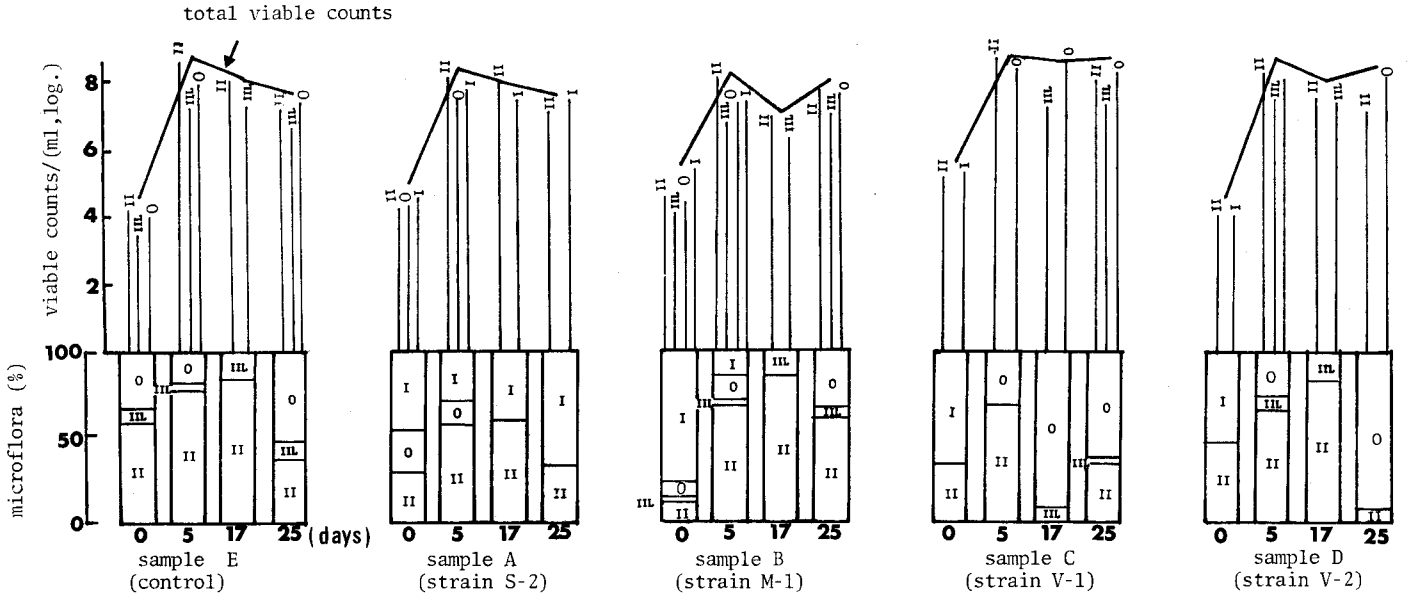

Fig. 1. Changes of microflora and viable counts in "Ika-Shiokara" inoculated with several kinds of bacteria

もに熟成初期に急増し，いずれも仕込み後5日目で 10^8/ml 強の値を示し，その後も高い菌数が維持され，前報[1]と同じようなパターンが認められた。

菌相に関しては対照試料Eの場合，その熟成過程における優勢菌群は *Staphylococcus* subgroup II (S-1 株) で，前報[1]において報告した用塩量10%のいか塩辛の場合と同様な傾向が認められた。次に試料B，CおよびDについては，仕込み直後（供試菌接種直後）にその菌相中で最も優勢であった各供試接種菌はその後減少し，仕込み後5日目で試料CおよびDの菌相から完全に消滅した。このうち試料Cの場合には供試接種菌（V-1 株）および通常の10%用塩量いか塩辛の熟成過程において優位を占めるS-1 株以外の菌群が，5日目にすでに菌相中において相当高い比率を示し，17日目では圧倒的に優勢となるに至った。このように他の試料と異なった菌相の変遷は，試料Cの食用不適となる時期が他の試料と比較して早まるという品質上の問題点とも密接に関連しているものと思われる。試料Bについては仕込み後5日目でも菌相中に供試接種菌が認められるものの，菌相中で占める比率は低く，17日目においては全く観察できず，優勢種は5日目以降実験期間を通じS-1 株に交替した。試料Dの場合には試料Cと同様，供試接種菌は5日目で全く認められず，S-1 株が5日目から17日目まで優勢であったが，25日目では他菌種が菌相中で優位を占めた。一方，試料Aの菌相については観察期間を通じ接種菌が認められるが，菌相中で占める割合は，仕込み直後よりも5日目，17日目で多少減少し，それに替っていか塩辛本来の熟成過程における優勢種 *Staphylococccus* subgroup II が顕著に増加した。しかしその後25日目には再び接種菌の *Staphylococcus* subgroup II 類縁菌が優位を占めるに至った。

供試菌の耐塩性

結果は Table 2 に示したが，食塩濃度10%までは全ての供試菌が増殖可能であった。特にいか塩辛熟成過程における菌相中で優勢となるS-1 株（*Staphylocobcus* subgroup II）は食塩濃度18%まで増殖を示し，このような高い耐塩性がいか塩辛菌相中で優位を占める一因とも推察される。一方，いか腐敗肉由来のV-2 株は食塩濃度5，8および10%では，良好な増殖を示したが0%では増殖が認められず，明らかな好塩性を示した。なお，増殖の認められたいずれの食塩濃度の培地中においてもその増殖量は他の菌株より多かった。

Table 2. Salt tolerance of the inoculated strains

NaCl (%) / Strain No. (Sample)	0	5	8	10	15	18
S-1 (E)	+	+	+	+	+	+
S-2 (A)	+	+	+	+	+	−
M-1 (B)	+	+	+	+	+	−
V-1 (C)	+	+	+	+	−	−
V-2 (D)	−	+	+	+	−	−

+: growth　　−: not growth

以上の結果から，試料A，B，CおよびDにおける供試各接種菌は食塩濃度10%の培地中ではいずれもその増殖が可能であったにも拘らず，用塩量10%のいか塩辛中では全く増殖が認められないか，または増殖が認められても *Staphylococcus* subgroup II (S-1 株) に比較してその程度は小さかった。このことはいか塩辛の有する種々の性状が優勢種である *Staphylococcus* subgroup II に適した生息環境であること，すなわち，この *Staphylococcus* subgroup II は単に耐塩性が高いということだけではなく，水分活性，外皮組織，筋肉および肝膵臓に含まれる各種成分など物理・化学的諸性状に

適合し増殖するものと推察される。

これまで，いか塩辛への微生物接種試験は首藤ら[7]の研究を除いては殆んど見受けられず，同氏らはいか塩辛仕込み時に耐塩性の乳酸菌や酵母菌を添加すると風味が向上することを報告している。しかし，熟成過程における接種乳酸菌や酵母菌の動態については確認はしていない。

本研究の結果からも明らかなように，一般的には有用微生物を添加してその作用によっていか塩辛の保存性や風味を改良しようとする場合には，使用菌株は単に耐塩性が高いということだけではなく，いか塩辛中で増殖可能であることが必要であると考えられるが，それとともにその有用微生物の熟成中における動態について究明することが大きな課題となろう。

要　　約

用塩量10%のいか塩辛を対照試料とし，それに種々の供試細菌（Table 1-1, Table 1-2）を仕込み直後に菌相中で約50%以上になるように接種し，各試料について熟成過程（25°C）における生菌数・菌相の変化を官能試験との関連で比較検討し，次のような結果を得た。

1. 供試細菌接種試料において，試料B (M-1株)，C (V-1株) およびD (V-2株) に対する各当該接種菌はそれぞれ5日または17日目で各試料の菌相構成菌群から消失し，試料BおよびDにおいては替って通常のいか塩辛（対照試料E）で優勢種と認められた *Staphylococcus* subgroup II が各試料の菌相中で優位を占めた。

2. なお，試料Cにおいては，5日目で接種菌が菌相から消失するとともに *Staphylococcus* subgroup II が優勢となったが，17日および25日目では他菌種が優位を占めた。

3. 試料A (S-2株) の場合，当該接種菌は観察期間を通じ試料中の主要菌相構成菌として推移した。

4. 試料A, BおよびDは，対照試料Eに比較してその可食期間に殆んど差を認めなかったが，試料Cでは他の試料に比較して可食期間が短縮された。

5. 全試料の熟成期間を通じ，その菌相中で優勢となる傾向の強かった *Staphylococcus* subgroup II は，通常の用塩量10～20%のいか塩辛が形成する種々の環境条件に適合して増殖するものと考えられた。

謝　　辞

本研究は文部省科学研究費補助金（課題番号 00547111）によってなされたことを付記し謝意を表する。

文　　献

1) 森　勝美・信濃晴雄・秋場　稔 (1979). いか塩辛の微生物学的研究–II. いか塩辛熟成過程中の好気的細菌について. 日水誌, **45**, 771–779.
2) Baird-Parker, A,C. (1962). The occurrence and enumeration, according to a new classification, of Micrococci and Staphylococci in bacon and on human and pig skin. *J. appl. Bact.* **25**, 352–361.
3) Baird-Parker, A.C. (1963). A classification of Micrococci and Staphylococci based on physiological and biochemical tests. *J. gen. Microbiol.* **30**, 409–427.
4) Baird-Parker, A.C. (1965). The classification of Staphylococci and Micrococci from world-wide sources. *J. gen. Microbiol.* **38**. 363–387.
5) Baird-Parker, A.C. (1966). Methods for classifying Staphylococci and Micrococci. p. 59–64, In Gibbs, B.M. and Skinner, F.A. (ed.). *Identification Methods for Microbiologists* Part A 145p. Academic Press, London and New York.
6) 厚生省 (1959). 衛生検査指針 III, 食品衛生検査指針 (I). 細菌学的検査法. 52p. 協同医書出版社, 東京.
7) 首藤勝夫・石川宣次・北林邦次 (1965). イカ塩辛に関する研究–I. 北海道区水産研究所報告. **31**, 99–104.