

# 好塩性細菌の発育に及ぼす食塩並に その狭雑塩類の影響について

谷 口 忠 敬

## Effect of Salt and Its Impurities-salts on the Growth of Two Moderate Halophiles

Tadataka TANIGUTI

Environmental influence of salt or of the other neutral salts contained as impurities in it upon the growth of *Vibrio* sp. No. 10 and *Micrococcus* sp. No. 2 was studied. Maximum growth of both organisms occurs in ca. 1 mol sodium chloride containing media.

Additions of small amount of magnesium salts were stimulatory for their growth in media containing 1.0 mol sodium chloride, while calcium chloride prevented the growth of two halophiles in the same media. Relatively a high concentration of sodium chloride is not an essential factor controlling the growth of these two halophiles. In a low sodium chloride medium where the halophiles failed to grow, *Micrococcus* sp. No. 2 could grow in environment of a high osmotic pressure with other salts or sugar.

塩蔵魚・塩干魚の製造においては加工原料の鮮度と共に使用する食塩の品質が著しく影響することは既往の研究で明らかであるが、最近では淡塩製品の方が好まれる傾向にある。従来食塩細菌の研究は所謂赤変の原因となる *Halobacterium* 属を主とするがこれらの細菌は Extreme Halophile であつて少くとも12%以上、飽和濃度迄の食塩を必要とする。然し淡塩製品にはむしろこれよりも更に低濃度の食塩が使用され、その変敗には大部分耐塩性細菌及び *Halobacterium* 属以外の好塩細菌が作用すると考えられる。

本研究は *Vibrio* 及び *Micrococcus* 属に入る2株の好塩性細菌について食塩及び食塩に狭雑する塩類等のその発育に対する影響を試験したもので、併せてその発育と浸透圧との関係について若干の考察を行ったものである。

本研究を行うに当り終始懇篤な御指導を賜つた本学武田教授並びに銭谷助教授に対し茲に謹んで感謝の意を表する。

### 供試細菌及び実験方法

1. 供試細菌の一般菌学的性質： 供試細菌の菌学的性質の概略は Table 1 の如くで仮に *Vibrio* sp.

Table 1. The general feature of the test halophilic bacteria.

	<i>Vibrio</i> sp. No. 10.	<i>Micrococcus</i> sp. No. 2.
Form:	Curved rods; 0.5-0.8×1.2-2.2 $\mu$ Gram-negative.	Spheres: 2.5-3 $\mu$ Gram-negative.
Flagellum:	Single or two.	A polar flagellum.
Agar colonies:	Circular, smooth and entire.	Circular, punctiform.
Gelatine:	Liquefaction.	No liquefaction.
Nitrate reduction:	None.	Positive.
Indol and H <sub>2</sub> S:	None.	None.
Starch hydrolysis:	None.	None.
Acid from	glucose, mannose, sucrose and maltose.	None. (after 72 hrs. at 25°C)

Note: All differential media were prepared with 5% NaCl.

No. 10 及び *Micrococcus* sp. No. 2 として使用した。普通肉汁中には発育しないから試験は5%食塩を含む培地を用いて実施した。

2. 2 好塩細菌の発育速度の測定： 前培養は 1Mol 食塩を含有する普通肉汁の24時間培養を使用し、培養液5mlに対し0.01ml宛を接種した。*Vibrio* sp. No. 10 は30°C, *Micrococcus* sp. No. 2 は25°Cに培養した。その発育量は光電比色計 (Filter 660) を使用して比濁的に測定し、Transmittance% で示した。

3. 塩類の阻害度試験： 発育阻害度は次式によつて算出した。

$$\text{発育阻害度} = \frac{d_0 - d}{d_0 - d_s} \times 100$$

$d_0$ ……対照となる培養液中における細菌の発育量, Optical Density.

$d$ ……薬品を添加した培養液中の発育量, Optical Density.

$d_s$ ……培養液 (接種前の) の Optical Density.

### 実験結果

#### 1. 供試細菌の発育と食塩濃度の関係.

両者は所謂典型的な好塩細菌の発育型を示し食塩を含まぬ肉汁中では全く発育し得ない。然るに Figure 1 及び 2 に示した如く *Vibrio* sp. No.10 は 1Mol (約6%NaCl) 食塩濃度附近に発育最適濃度をもち、最低約0.2Mol (1.1%) 最高約2.6Mol (14%) 濃度に発育限界を示した。また *Micrococcus* sp. No. 2 は発育最適濃度は約1.0Mol であつて、最低0.4Mol (2.2%), 最高4.2Mol (24%) が略々その限界濃度であつた。

従つて少くとも発育に12%NaCl 以上を要する *Halobacterium* とは異なる好塩細菌である。Flannery<sup>2)</sup> に従えば *Vibrio* sp. No. 10 は Facultative Halophile, *Micrococcus* sp. No. 2 は Obligate Halophile に入るものである。

なお化学用1級食塩と市販食卓塩を使用した場合、純粋に近いものよりも狭雑無機塩の多い食卓塩を使用の方が最適発育濃度以下ではよりよく発育する傾向が *Micrococcus* sp. No. 2 の場合に明らかに認められ、食塩の品質が影響することを示している (Figure 2)。

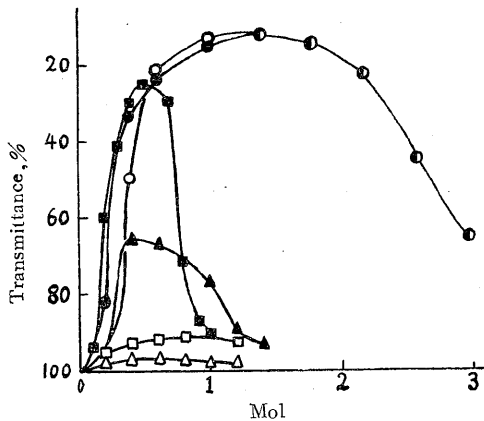


Fig. 1. Effects of NaCl, KCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, MgCl<sub>2</sub> and MgSO<sub>4</sub> on the growth of *Vibrio* sp. No. 10.

●—● NaCl ○—○ Table salt  
 ■—■ Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>  
 □—□ MgSO<sub>4</sub> ▲—▲ KCl  
 △—△ MgCl<sub>2</sub>

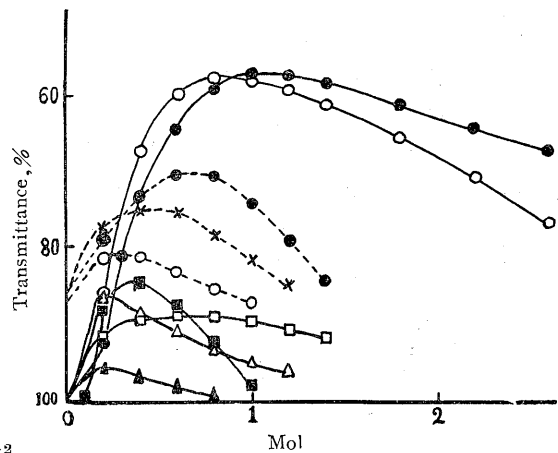


Fig. 2. Effects of NaCl, KCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, MgCl<sub>2</sub>, MgSO<sub>4</sub>, glucose and sucrose on the growth of *Micrococcus* sp. No. 2.

●—● NaCl ○—○ Table salt  
 ●—● Glucose+0.5%NaCl  
 ■—■ Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> □—□ MgSO<sub>4</sub> ○—○ Glucose  
 ▲—▲ KCl △—△ MgCl<sub>2</sub>  
 ×—× Sucrose+0.5% NaCl

## 2. 食塩以外の中性無機塩類の影響

所謂食塩細菌と称される細菌の発育には食塩が必ず必要であるのか、または単に浸透圧を附与すれば他の塩類でもこれに置換し得るかと言う点、及び食塩に狭雑する無機塩単独の場合の影響を併せて知りたいと考えこの実験を行った。

中性塩類としては  $\text{KCl}$ ,  $\text{MgCl}_2$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4$  及び  $\text{CaCl}_2$  の6種を用いて実験した。

Figure 1 に示したように *Vibrio* sp. No. 10 の場合  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  でもかなりの発育を示し、若しこれを浸透圧式  $P = ic RT$  に入れて見ると  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  では浸透圧は  $3/2$  となり  $\text{NaCl}$  に稍々近似した曲線となるであろう。然し  $\text{NaCl}$  単独の場合には及ばない。この関係は Flannery等<sup>3)</sup> が *Vibrio costicolus* に就いて行つた実験結果とよく一致するようである。

Figure 2 の *Micrococcus* sp. No. 2 の場合も略々同様であつて、浸透圧も関係するがこれのみでは説明されずやはり食塩の独自の効果が多分に影響するようである。

## 3. 1 Mol 食塩中に混合した他の塩類の影響

両菌共に略々6%食塩濃度に最適発育を示す。この場合他の中性塩類を添加しその促進又は阻害の影響を試験した。

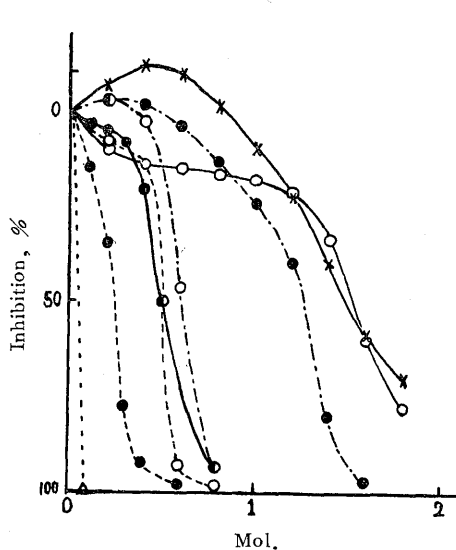


Fig. 3. Effect of various salts on the growth of *Vibrio* sp. No. 10 in media containing 1 Mol sodium chloride (30°C, 24 hours culture).

×—×  $\text{NaCl}$  ●—●  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   
 ●—●  $\text{MgSO}_4$   
 ●—●  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  ○—○  $\text{KCl}$   
 ○—○  $\text{MgCl}_2$  ○—○  $\text{NH}_4\text{Cl}$   
 △—△  $\text{CaCl}_2$

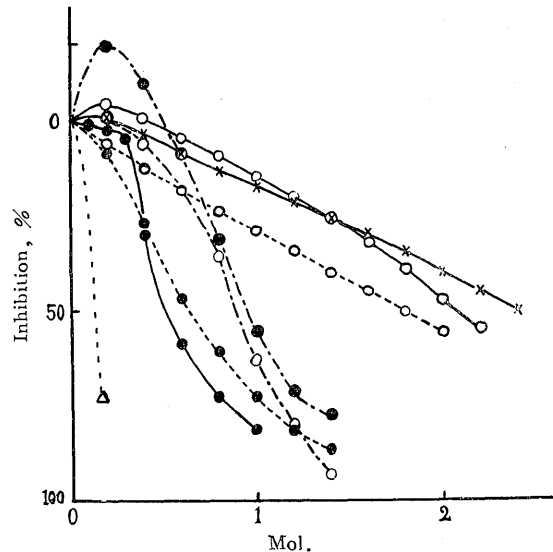


Fig. 4. Effect of various salts on the growth of *Micrococcus* sp. No. 2 in media containing 1 Mol sodium chloride (25°C, 42 hours culture).

×—×  $\text{NaCl}$  ●—●  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   
 ●—●  $\text{MgSO}_4$  ●—●  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$   
 ○—○  $\text{KCl}$  ○—○  $\text{MgCl}_2$   
 ○—○  $\text{NH}_4\text{Cl}$  △—△  $\text{CaCl}_2$

*Vibrio* sp. No. 10 の 30°C, 24時間後における結果は Figure 3 の如くである。即ち0.1Mol の  $\text{CaCl}_2$  が共存すれば全く発育を阻害し、これに反し、 $\text{MgCl}_2$  と  $\text{MgSO}_4$  は0.2 Mol では促進効果を示した。また  $\text{KCl}$  は1.2 Mol 以上存在すれば  $\text{NaCl}$  単独の場合と同様であつて、恐らく  $\text{Na} : \text{K}$  の比率によるもので  $\text{K}$  が  $\text{Na}$  よりも少い時は僅かに阻害するが、食塩 1 Mol に対し  $\text{KCl}$  が 1 Mol 以上あれば全く  $\text{NaCl}$  単独の場合と同様に発育する。又  $\text{NH}_4\text{Cl}$  は  $\text{NaCl}$  と同様の効果を期待したが  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  と共に返つて阻害が著しかった。恐らく  $\text{NH}_4^+$  の利用される結果、生理的酸性となり発育を阻害するものと思われる。*Micrococcus* sp. No. 2 は Figure 4 に示したが、*Vibrio* sp. No. 10 と同様に  $\text{CaCl}_2$  は阻害する。

特に0.2 Mol の  $MgSO_4$  の共存は著しく発育を促進した。又単独 KCl では殆ど発育が認められなかつたが1.0 Mol 食塩と共存すると0.2 Mol で明らかに促進を示し、又阻害曲線も NaCl 単独と略同様であつた。

## 考 察

好塩細菌の発育に対する各種塩類の影響を見た以上の結果から考え所謂食塩細菌の発育には高濃度の食塩を必要とするようであるが、食塩の影響を単に食塩独自の効果あるいは浸透圧のみの効果に簡単に帰することは出来ない。

*Vibrio* sp. No. 10の場合、明らかに  $Na_2SO_4$  は大部分 NaCl に置換し得るし、*Micrococcus* sp. No. 2でも1 Mol の食塩さえあればそれ以上は NaCl でも KCl でも同様の効果を期待し得る。又  $NH_4Cl$  でも略同様の効果がある。これらの事から食塩細菌の発育には或る程度の食塩があればそれ以上は他の無害な中性塩類、KCl,  $Na_2SO_4$  でも置換する事が出来るようである。また浸透圧を非電解質の糖類で代えた場合、Figure 2 に示す如く、Glucose, Sucrose でもかなりの効果を現し、0.5% NaCl を添加した Glucose では更にその効果が顕著になる。単に0.5% NaCl では発育しないからこれは明らかに Glucose の浸透圧の効果に帰するものであり Flannery 等<sup>4)</sup> *Vibrio costicolus* (4) について同様の結果を得ている。

以上の事から両食塩細菌の発育は全く高濃度食塩のみに依存するのではなく浸透圧及び食塩の協同の効果によるものでそれぞれ単一の効果とは限らないようである。

なお塩蔵魚製造の場合に純塩の利用が食塩の浸透の面からも望ましいが、菌株によつて相違するけれども少量の Mg 塩、KCl の様な狭雑塩は好塩細菌の発育を促進し腐敗を速めるであろうと考えられる。従つて使用する食塩は塩蔵魚の品質、食塩の浸透、又好塩細菌の発育の面から見ても可及的純粋のものが望ましいものと思う。

## 総 括

2株の好塩性細菌、*Vibrio* sp. No. 10 及び *Micrococcus* sp. No. 2 の発育に対する食塩及び食塩中に狭雑する無機塩等の影響について試験した。両株共に 1 Mol 食塩に最適発育濃度を有し、少量の Mg 塩はその発育を促進するが、Ca 塩は阻害する。両菌の発育に食塩は必ずしも高濃度を必要とせず少量の食塩があれば他は影響の少い中性塩或は糖類で浸透圧を附与すれば発育することが出来る。

## 文 献

- 1) BREED, R. S., MURRAY, E. G. D., and SMITH, N. R. et al. : "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology", 7th Ed., P. 207 (1957)
- 2) FLANNERY, W. L. : Bact. Rev., 20, 49 (1956)
- 3) ELANNERY, W. L., DOETSCH, R. N., and HANSEN, P. A. : J. Bact., 64, 713~714 (1952)
- 4) FLANNERY, W. L., DOETSCH, R. N., and HANSEN, P. A. : J. Bact., 66, 526~530 (1953)