

53

助成番号 0153

沖縄県産スクガラス（アイゴ塩蔵製品）中の高塩性細菌に関する研究

助成研究者：久田 孝（石川県農業短期大学）

沖縄県の各島で旧暦の6月と7月の朔日（ついたち）前後に、浜に寄せて来るアイゴ *Siganus fuscescens* (Houttuyn) の稚魚（スク、体長24 cm程度）の漁がいっせいに行われる。スクは陸に揚げてすぐに、重量の1/3 1/2程度の食塩を加え、瓶や壺に詰めて数カ月以上発酵させる。この塩蔵製品がスクガラス（ガラスは塩辛の沖縄方言）である。かつては各家庭で作られ、家庭内で消費されていたが、現在では水産加工業者によって製造され、県の特産品として流通している。

本研究では沖縄県産スクガラス5製品について、塩分濃度と好塩性細菌数や微生物代謝の指標となる乳酸、酢酸、揮発性塩基窒素などの化学成分を調べた。製品中の好塩性細菌数は、0-20%(w/v) 食塩を含有した標準寒天培地およびGAM培地を用いて検討した。スクガラスと他の塩漬け魚介類と比較するため、石川県能登地方で伝統的に製造されている魚介類の塩漬け製品（食塩だけを加え、魚介類が赤味を帯びるまで数カ月間塩蔵される）について同様の実験を行った。また10%および15%食塩を含む培地から好塩性菌を分離し、細胞形態やカタラーゼの有無、糖利用能などの性状などを調べた。さらに代表的な菌株5株選択し、塩分濃度や温度に対する感受性などを調べた。

沖縄産のスクガラス5サンプル中、食塩濃度21-28%(w/w)の4サンプルでいずれの培地上でも細菌数は 10^3 cfu/g以下であったが、食塩濃度16%の製品では、好塩性乳酸球菌が 10^7 cfu/g存在し、遊離アミノ酸、乳酸などの濃度が高かった。能登半島産の塩漬けサバ3サンプルで好塩性乳酸球菌数に大きな差はなかったが、食塩22-24%の2サンプルにおいて食塩28%のサンプルよりも乳酸量が高かった。スクガラスから優勢菌として分離した好塩性乳酸菌株は能登産の塩漬け製品から分離した株と比較し、食塩無添加培地でもよく発育したにも関わらず、発育限界塩分濃度は同等であり、40℃における発育も良好であった。

これらの結果より、スクガラスその他の塩漬け製品中の好塩性細菌の菌数や、乳酸発酵などは塩分濃度によって大きく異なることが示された。また、今回の実験で菌数の高かった製品から分離した好塩性細菌の多くは *Tetragenococcus* と考えられるが、菌株により、塩分濃度に対する感受性や糖利用能に違いが認められ、各塩漬け製品や材料、また、生産地との関連からも非常に興味深いものと考えられる。

17

助成番号 0153

沖縄県産スクガラス (アイゴ塩蔵製品) 中の高塩性細菌に関する研究

助成研究者：久田 孝 (石川県農業短期大学)

1. 研究目的

沖縄県の各島で旧暦の6月と7月の朔日(ついたち)前後に、浜に寄せて来るアイゴ *Siganus fuscescens* (Houttuyn) の稚魚(スク, 体長2~4cm程度)の漁がいつせいに行われる。海藻を食したスクの内臓は風味が悪くなるため、朔日をはさんだ三日間に漁は集中する。スクは陸に揚げてすぐに、重量の1/3~1/2程度の食塩を加え、瓶や壺に詰めて数カ月以上発酵させる。この塩蔵製品がスクガラス(ガラスは塩辛の沖縄方言)であり、かつては各家庭で作られ、家庭内で消費されていたが、現在では水産加工業者によって製造され、県の特産品として流通している(Photo 1)。また、近年ではカツオの腸の塩蔵品(ワタガラス)なども市販されるようになった。



"Suku-garasu" "Wata-garasu".

A pickles shop in Makishi, Naha, Okinawa

Photo 1 Salted and fermented fish products and a retail shop in Okinawa.

糠漬け、くさや、なれずしなど塩蔵をともなう水産漬物製品中では多くの微生物が活動を行っており[1-6]、高濃度の食塩存在下でも生育できる好塩性細菌が、独特の風味や保存性、乳酸の生成などに関与していると考えられている。スクガラス中にも好塩性の細菌が存在していると考えられるが、これまで詳細に調べられた報告例はほとんどなく、またその発酵に関する化学成分の報告もほとんどない。

製品について、塩分濃度と好塩性細菌数や微生物代謝の指標となる化学成分などを調べた。また、スクガラスと他の塩漬け魚介類と比較するため、主に石川県能登地方で伝統的に製造されている魚介類の塩漬け製品（食塩だけを加え、魚介類が赤味を帯びるまで数カ月間塩蔵される）について同様の実験を行った。さらに各試料から好塩性の乳酸菌を分離してその性状などを比較検討した。

2. 研究方法

2.1 塩蔵製品

沖縄県で製造されたスクガラス 5 製品、カツオのワタガラス 1 製品、石川県で製造された塩漬けイカ 2 製品、塩漬けサバ 3 製品、さばのこ（サバ卵巣の塩漬け） 4 製品、塩漬けサザエ 1 製品および塩漬けクジラ（皮） 1 製品を購入した。これらの塩漬け製品はそれぞれ常温で数日間塩漬けされたものである。

2.2 生菌数測定

各試料を常法の通り 10 倍段階希釈を行い、5, 10, 15 および 20 % (w/v) の NaCl を加えた標準寒天培地（APC、ニッスイ、好気培養用）および GAM 寒天培地（GAM、ニッスイ、嫌気培養用）に塗抹した。30℃で 3 から 10 日間培養後、コロニー形成数（cfu）を調べた。

2.3 化学成分

各製品の食用部を試料とし、水分含量、塩分濃度、pH、水溶性タンパク質、遊離アミノ酸、揮発性塩基窒素量（VBN）、水溶性糖、乳酸および酢酸濃度をそれぞれ既報[2, 7, 8]に従い測定した。

2.4 好塩性菌の分離と性状試験

食塩 10 および 15% を加えた寒天培地に発育したコロニーを、形状ごとに 5 個（出現数が 5 以下の場合は全て）釣菌し（146 株）、それぞれの菌株についてグラム染色性、細胞形態、カタラーゼの有無を調べた。

カタラーゼ陰性、グラム陽性球菌（100 株）について、食塩不含培地での発育、糖利用能などの性状試験を既報[2]と同様に行った。これらの性状試験には 1/2 濃度の GAM 糖分解用半流動培地から寒天を除いたものを用いた。

さらに代表的な菌株についてスクガラスから 3 株、塩漬けイカおよび塩漬けサバから 1 株ずつ選択し、至適塩分濃度や発育に及ぼす温度の影響などを検討した。

3. 結果および考察

3.1 生菌数および化学成分

スクガラス 5 製品中 4 製品 (Table 1、A-C) は、すべての寒天培地で cfu は $10^3/g$ 以下であったが、製造元 D の製品中には 10 % (w/v) 以上 NaCl を加えた寒天培地で発育可能な細菌 (好塩性細菌) が $10^7/g$ 存在した。ワタガラスではいずれの培地でも cfu は検出限界以下 ($<10^2/g$) であった。塩漬けイカでは好塩性細菌が $10^3\sim 10^4/g$ 、塩漬けサバでは $10^5/g$ であった。さばのこでは 1 製品のみで好塩性細菌が $10^3/g$ 検出され、他の 3 製品は $10^2/g$ 以下であった。塩漬けサザエでは $10^4/g$ の好塩性細菌が検出された。APC 好気培養と GAM 嫌気培養での菌数を比較すると、食塩を加えていない場合は APC 好気培養で高く、10%以上の NaCl を加えた場合は GAM 嫌気培養の方が高かった。

スクガラスの中で菌数の高かった製造元 D の製品では、塩分濃度が約 16% と、他のスクガラス製品 (21~28%) より低く、VBN および乳酸量が高いことから (Table 2)、発酵、熟成が進んでいる製品であることが示された。その他の製品では、VBN は塩漬けイカおよびサバで高く、乳酸量は塩漬けサバおよびサザエで高い傾向であったが、塩漬けサバ

Table 1 Bacterial counts of salted and ripened fishes on several salinity media (log colony forming units/g)

Salted fish products	"Suku-garasu"				"Wata-garasu"		Salted squid		Salted mackerel			Salted mackerel ovary			Salted turbo	Salted whale		
	Factories	A	A ¹	B	C	D	B	E	F	F	G	G	E	H	I	G	G	E
Media	NaCl % (w/v)																	
APC agar	0	2.5	2.5	3.1	-	7.7	-	-	3.6	2.5	3.4	3.0	3.4	3.3	3.7	3.7	-	3.8
	5	-	2.3	2.6	2.5	7.5	-	3.3	3.8	5.3	5.4	5.0	3.8	3.5	3.9	3.7	5.0	3.6
	10	-	2.3	2.8	-	7.4	-	3.1	3.5	5.3	5.2	4.8	2.8	2.3	2.6	2.8	3.9	2.9
	15	-	2.6	3.0	-	6.9	-	-	3.3	5.0	5.1	3.7	3.6	-	-	-	-	-
	20	-	-	2.5	-	2.3	-	-	2.5	-	2.3	-	3.2	-	-	-	-	-
GAM agar	0	2.5	-	-	-	7.6	-	-	3.1	-	2.6	-	-	-	-	2.3	-	3.8
	5	2.6	2.3	3.1	-	7.4	-	3.3	3.7	5.3	5.4	5.4	-	-	2.3	-	5.3	3.3
	10	-	2.5	3.1	-	7.5	-	3.3	3.1	5.0	5.2	5.4	3.6	-	-	-	5.0	3.9
	15	-	-	3.1	-	7.1	-	3.1	-	5.1	5.2	5.0	3.6	-	-	-	4.1	2.3
	20	-	-	2.9	-	6.7	-	2.3	-	5.1	5.1	4.7	3.2	-	-	-	3.9	-

¹ Containing amino acid for taste.

- Not detected <2.0 .

Table 2 Chemical compounds in salted and ripened fish products

Salted fish products	Factories	"Suku-garasu"					"Wata-garasu"		Salted squid			Salted mackerel			Salted mackerel			Salted turbo	Salted whale
		A	A	B	C	D	B	E	F	F	G	G	E	H	I	G	G	E	
Salinity	(g/100g)	27.8	21.1	22.2	21.5	16.0	19.3	24.9	21.6	22.3	24.0	27.9	25.4	15.6	26.5	18.3	14.6	18.9	
Water content	(g/100g)	63.0	67.6	61.6	62.4	67.6	57.5	43.9	51.1	55.8	47.6	47.3	50.3	50.5	46.5	49.7	57.6	8.4	
pH		5.25	5.00	5.06	5.29	5.42	4.59	6.11	5.48	5.90	5.96	6.11	5.33	5.97	5.81	5.89	5.52	5.79	
Soluble protein	(mg/100g)	323	352	283	425	820	815	720	735	698	935	430	2100	2580	2630	1250	391	160	
Free-amino acid	(mg/100g)	9	6	21	30	82	86	104	159	157	113	79	55	99	73	41	24	23	
VBN	(mg/100g)	15	14	18	12	173	41	134	69	318	146	318	39	42	26	13	31	3	
Soluble saccharides	(mg/100g)	181	103	127	252	75	7619	135	219	140	171	45	801	754	730	526	282	93	
Lactic acid	(mg/100g)	206	10.4	435	293	914	224	3	37	1580	1440	7	514	286	516	324	1290	880	
Acetic acid	(mg/100g)	2	5	t	1	35	86	4	2	33	23	50	1	1	1	ND	11	ND	

VBN, Volatile basic nitrogen; ND, Not detected.

1 製品（3 製品中）で乳酸量が低かった。乳酸量の高かった製品では好塩性細菌数が高い傾向であり、また乳酸量の低かった塩漬けサバは塩分濃度が 27.9% と最も高い値であった。生菌数が検出されなかったワタガラス中には水溶性糖が多いものの、乳酸は少なかった。洗い、または最終製品にも添加する泡盛により発酵や熟成が抑制されている可能性が推察される。

3.2 好塩性細菌の分離

好塩性細菌が $10^7/g$ 検出されたスクガラス (D)、塩漬けイカ 1 製品 (E)、塩漬けサバおよびサザエからは好塩性の乳酸球菌（グラム陽性、カタラーゼ陰性、グルコースから酸を産生）が多く分離された (Table 2)。これらの乳酸球菌は、その細胞の多くが 4 連球菌であることと、好塩性を示すことから *Tetragenococcus* [9] に属するものと推定される。*Tetragenococcus* は味噌や魚醤などの発酵に重要な役割を果たしていると考えられており [10, 11]、我々も以前石川県産の糠漬け製品から優勢菌として分離した [2]。その他の好塩性細菌としてカタラーゼ陽性のグラム陰性桿菌および球菌が分離された。カタラーゼ陽性の球菌は本実験では優勢ではないが、イカ塩辛（塩分濃度 6-10%）では *Staphylococcus* や *Micrococcus* が優勢菌となり、乳酸蓄積などに関与することが報告されている [12]。今回の実験において、好塩性のグラム陰性桿菌は塩分濃度の高いスクガラスや塩漬けさばのこなどで優勢であったが、生菌数はいずれも $10^3/g$ 以下であった。

3.3 好塩性乳酸球菌の性状

好塩性の乳酸球菌として分離した 100 株について、性状試験を行った結果を Table 3 に示した。スクガラスから分離した菌株の多くは食塩無添加の培地（塩分濃度 0.46%）

Table 4 Characterization of moderately halophilic lactococci isolated from salted and ripened fish products

		<i>Tetragenococcus halophilus</i> ³											Other		
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	Other	Total	
Gram stain		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Cell morphology		c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	
Catalase		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Aerobic growth		w	w	w	w	w	w	w	w	w	w	w	w	w	
Growth in the GAM															
boroth added no salt		-(w)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Acid from															
Ribose		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Glucose		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Sucrose		+/-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Lactose		-	w	w	w	w	w	w	w	w	w	w	w	w	
Raffinose		+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Sorbitol		-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Salicin		+/-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Number of isolates		2	4	2	3	15	3	30	2	2	2	23	12	100	
Salted fish products		Number of isolates from each samples													
"Sukui-garasu"		(and strain used for further test)													
	A ²	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	
	C	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
	D	2	3	1	3	4	4	4	4	4	4	4	4	19	
	E	(IPU 7-3)	(IPU 7-3)	(IPU 7-3)	(IPU 7-2)	(IPU 7-2)	(IPU 7-2)	(IPU 7-2)	(IPU 7-2)	(IPU 7-2)	(IPU 7-2)	(IPU 7-2)	(IPU 7-2)	11	
Salted squid		2 (IPU 6-1)													
Salted mackerel	F	3	1	4	2	2	3	1	15	15	15	15	15	15	
	G	1	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	26	
	G	4	1	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	13	
Salted mackerel ovar E		1													
Salted turbot	G	2													
		5													
		2													
		9													

^{1,2} See footnotes of Table 1.

³ Data from "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology" (1974)

+, positive; -, negative; w, weakly positive; c, cocci.

Table 3 Catalase, gram staining and cell morphology of moderately halophilic bacteria isolated from salted fish product

Market name	Factories	Media	[NaCl % (w/v)]	Number of isolates		Catalase (+) Gram (+)		Catalase (-) Gram (-)	
				Rods	Cocci	Rods	Cocci	Rods	Cocci
"Sukui-garasu"	A ²	APC agar	[10]	1	1	1	1	1	1
		APC agar	[15]	4	4	4	4	4	4
	B	GAM agar	[10]	3	3	3	3	3	3
		APC agar	[10]	4	4	4	4	4	4
		GAM agar	[15]	5	5	5	5	5	5
C	GAM agar	[10]	4	4	4	4	4	4	
		[15]	1	1	1	1	1	1	
	D	GAM agar	[10]	2	1	1	1	1	1
		APC agar	[10]	1	1	1	1	1	1
		GAM agar	[10]	5	5	5	5	5	5
E	GAM agar	[10]	5	1	4	4	4	4	
		[15]	5	5	5	5	5	5	
	F	Subtotal		45	19	2	24	24	24
		GAM agar	[15]	12	3	1	11	11	11
		APC agar	[15]	3	3	3	3	3	3
Saltes mackerel	GAM agar	[10]	2	2	2	2	2	2	
		[15]	2	2	2	2	2	2	
	G	Subtotal		19	7	1	11	11	
		GAM agar	[15]	15	15	15	15	15	
		APC agar	[15]	12	12	12	12	12	
Salted mackerel ovary	GAM agar	[10]	14	14	14	14	14		
		[15]	15	15	15	15	15		
	G	Subtotal		56	2	2	54	54	
		APC agar	[10]	1	1	1	1	1	
		GAM agar	[15]	1	1	1	1	1	
Salted turbot	APC agar	[10]	2	1	1	1	1		
		[15]	4	4	4	4	4		
	G	Subtotal		6	2	4	2	2	
		APC agar	[10]	14	3	9	9	9	
		GAM agar	[10]	3	3	3	3	3	
Salted whale	GAM agar	[10]	3	3	3	3	3		
		[15]	3	3	3	3	3		
	E	Subtotal		9	9	9	9	9	
		APC agar	[10]	2	2	2	2	2	
		GAM agar	[10]	1	1	1	1	1	
Total	Subtotal		3	3	3	3	3		
	Total		146	29	17	100	100		

でもよく発育し、スクロースやソルビトールなどの利用性を持つ菌株が多かった (I-V)。

その他の製品から分離したものでは、食塩無添加の培地ではほとんど発育が認められず、スクロースおよびソルビトールを利用できない菌株も多かった (VIII~XI)。現在 *Tetragenococcus* は *T.halophilus* と *T.muriaticus* が知られている [13]。その性状のちがいはそれぞれ食塩無添加での発育が陰性と陽性、スクロースの利用性が陽性と陰性と報告されているものの、今回の実験結果からだけではいずれの種に近いのか判断できず、また同じ種でも株により性状が異なっている可能性も考えられる。

3.4 代表的な分離菌の発育に及ぼす塩分および温度の影響

代表的な好塩性の乳酸球菌について、至適塩分濃度を調べた結果 (Fig. 1)、スクガラスから分離した菌株 (IPU 7-2、7-3、9-1) では至適塩分濃度は 5~10% であったが、塩分濃度 20% でも、時間は遅れるものの十分に発育可能で、培養液の pH も低下させた。食塩無添加では発育のほとんどみられないものとして塩漬けイカおよびサバから分離した菌株、(IPU 6-1、17-1) の場合、至適塩分濃度は 10~15% と高濃度側であったが、その塩分濃度域でも発育はスクガラスから分離した菌株より遅く、発育限界の塩分濃度も同程度であった。

これらの菌株について、10% 塩分濃度の培地で異なる温度で培養した場合 (Fig. 2)、いずれの培養温度でも最大発育量 (O.D. 値) はスクガラ

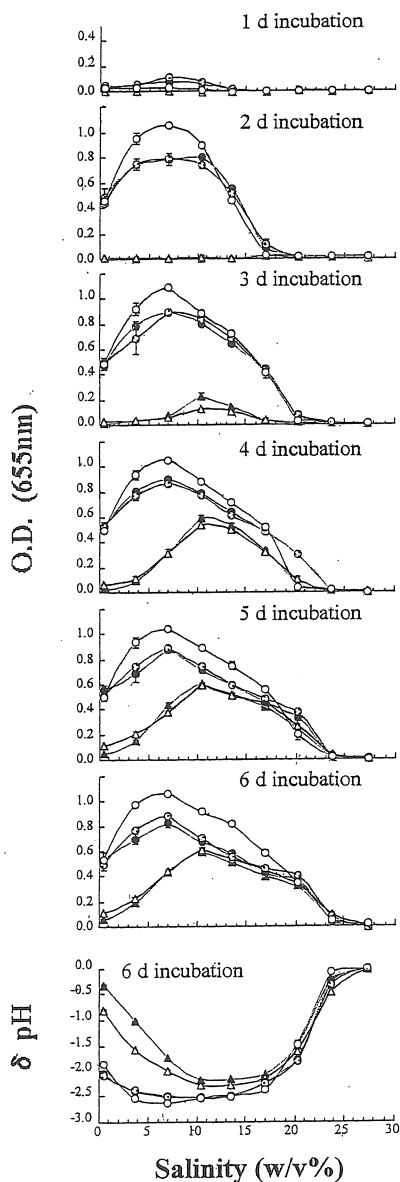


Fig. 1. Effects of salinity on growth of halophilic lactococci isolated from "suku-garasu" (IPU 7-2, open circles; IPU 7-3, semi-closed circles; IPU 9-1, closed circles), salted squid (IPU 6-1, open triangles) and salted mackerel (IPU 17-1, closed triangles). Vertical bars represent standard errors (n=3).

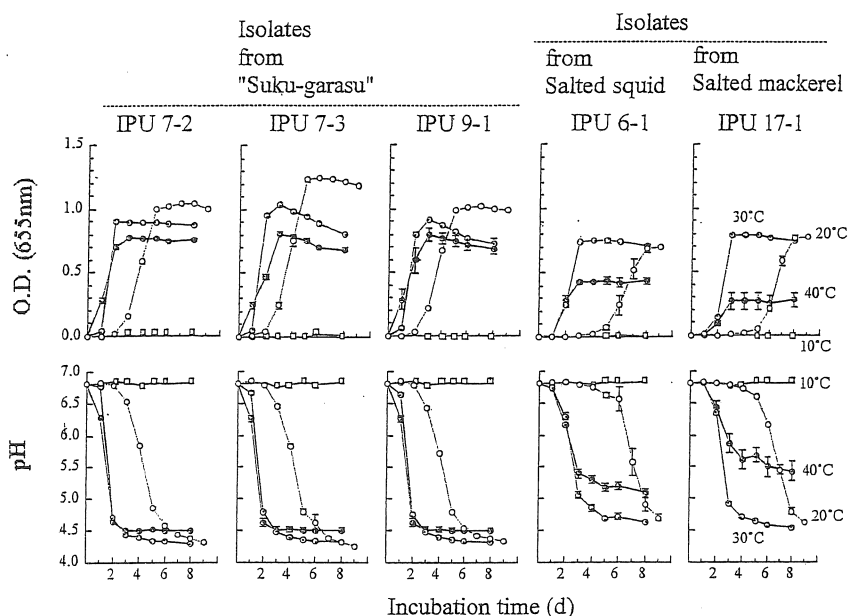


Fig. 2. Effects of temperature on growth of halophilic lactococci isolated from "suku-garasu" (IPU 7-2, IPU 7-3, IPU 9-1), salted squid (IPU 6-1) and salted mackerel (IPU 17-1). The strains were incubated at 10°C (open square), 20°C (open circles), 30°C (semi-closed circles) or 40°C (closed circles). Vertical bars represent standard errors (n=3).

スから分離した菌株で高かった。また、塩漬けイカおよびサバから分離した乳酸球菌の場合、40°Cにおける最大発育量が、20°C、30°Cにおける発育と比較して顕著に低かった。

以上の結果より、スクガラスその他の塩漬け製品中の好塩性細菌の菌数や、化学成分は塩分濃度によって大きく異なることが示された。能登特産のイカイシル（イカの内臓（ゴロ）を用いた魚醤）市販製品の化学成分について詳細に調べた報告でも、塩分濃度の低い製品で乳酸濃度が高い傾向が示されている[14]。また、今回の実験で菌数の高かった製品から分離した好塩性細菌の多くは *Tetragenococcus* と考えられるが、菌株により、塩分濃度に対する感受性や、糖利用能に違いが認められ、スクガラスで優勢であった好塩性乳酸球菌株は、能登産の製品から分離した株に比べ、より広い塩分濃度や温度域で発育可能であった。これらの結果は各塩漬け製品や材料、また、生産地との関連からも非常に興味深い。

4. 今後の課題

分離菌株について実験を行うとともに、より多くの試料について同様の実験調査などを行う必要がある。また、漬け込み工程における微生物叢の変動なども興味もたれる。特にスクガラスの塩分濃度の違いによる微生物叢への影響については、さらに詳細に検討していきたい。

5. まとめ

沖縄および能登半島産の17種類の水産塩漬け製品中の好塩性細菌数を、0-20%(w/v)食塩含有培地を用いて検討し、また10%および15%食塩を含む培地から好塩性菌を分離し、その性状、および塩分、温度に対する感受性などを調べた。沖縄産のスクガラス5サンプル中、食塩濃度21-28%(w/w)の4サンプルでいずれの培地上でも細菌数は 10^3 cfu/g以下であったが、食塩濃度約16%の製品では、好塩性乳酸球菌(*Tetragenococcus*)が 10^7 cfu/g存在し、遊離アミノ酸、乳酸などの濃度が高かった。能登半島産の塩漬けサバ3サンプルで好塩性乳酸球菌数に大きな差はなかったが、食塩22-24%の2サンプルにおいて食塩28%のサンプルよりも乳酸量が高かった。スクガラスから優勢菌として分離した好塩性乳酸菌株は能登産の塩漬け製品から分離した株と比較し、食塩無添加培地でもよく発育したにも関わらず、発育限界塩分濃度は同等であり、40℃における発育も良好であった。

参考文献

1. Fujii T, Kuda T, Okuzumi M. Anaerobic microflora of "kusaya" gravy. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1992; 49: 664-666.
2. 久田孝、宮本浩衣、坂尻誠、安藤琴美、矢野俊博. 石川県で製造された魚介類の糠漬け製品中の微生物フローラ. *日水誌* 2001; 67: 296-301.
3. Villar M, de Ruiz Holgado AP, Sanchez JJ, Trucco RE, Oliver G. Isolation and characterization of *Pediococcus halophilus* from salted anchovies (*Engraulis anchoita*). *Appl Environ Microbiol* 1985; 49: 664-666.
3. Kobayashi T, Okuzumi M, Fujii T. Microflora of fermented puffer fish ovaries in rice-bran "fugunoko nukazuke". *Fisheries Sci* 1995; 61: 291-295.
5. Kobayashi T, Kimura B, Fujii T. Differentiation of *Tetragenococcus* populations occurring in products and manufacturing processes of puffer fish ovaries fermented

- with rice-bran. *Int J Food Microbiol* 2000; 56: 211-218.
6. Satomi M, Kimura B, Hayashi M, Shouzen Y, Okuzumi M, Fujii T. *Marinospirillum* gen nov., with description of *Marinospirillum megataerium* sp. nov., isolated from kusaya gravy, and transfer of *Oceanospirillum minutulum* to *Marinospirillum minutulum* comb. nov. *Int J Syst Bacteriol* 1998; 48: 134-1348.
 7. Kuda T, Enomoto T, Yano T, Fujii T. Cecal environment and TBARS levels in mice fed corn oil, beef tallow and menhaden fish oil. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 2000; 46: 65-70.
 8. Moore S, Stein W. Photometric ninhydrin method for use in the chromatography of amino acids. *J Biol Chem* 1948; 176: 367-388.
 9. Gravie EI. Genus *Pediococcus* Claussen 1903. In: Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG (eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. 2. Williams and Wilkins Co., Baltimore. 1986: 1075-1079.
 10. Abe K, Uchida K. Correlation between depression of catabolite control of xylose metabolism and a defect in the phosphoenolpyruvate: mannose phosphotransferase system in *Pediococcus halophilus*. *J Bacteriol* 1989; 171: 1793-1800.
 11. Roling WFM, Van Verseveld HW. Characterization of *Tetragenococcus halophila* population in Indonesian soy mash (Kecap) fermentation. *Appl Environ Microbiol* 1996; 62: 1203-1207.
 12. Morishita K, Otakasaka W, Yamazaki K, Kawai Y, Inoue N, Shinano H. Isolation and characteristics of lactic acid bacteria in commercial "ika-shiokara". *Fisheries Sci* 1995; 61: 371-372.
 13. Satomi M, Kimura B, Mizoi M, Sato T, Fujii T. *Tetragenococcus muriaticus* sp. nov., a new moderately halophilic lactic acid bacterium isolated from fermented squid liver sauce. *Int J Syst Bacteriol* 1997; 47: 832-836.
 14. 道島俊英、佐渡康夫、矢野俊博、榎本俊樹. イシル(魚醤油)の遊離アミノ酸、オリゴペプチド、有機酸、拡散関連物質. 食科工会誌 2000; 47: 241-248.

Study in the Population of Halophilic Bacteria in "Suku-garasu" (Salted Fries of *Siganus fuscens*) Made in Okinawa

Takashi Kuda

Ishikawa Agricultural College

Summary

Fries (length of about 2-4 cm) of *Siganus fuscens*, called "suku" in Okinawa (in the subtropical zone), are brought near the shores of each island during the first days of June and July of the lunar calendar. Fisheries add salt of from 25 to 50 % of the fish weight immediately after catching and the "suku" is placed in a bottle or a jar. Then it is fermented for several months or longer. This traditional salt product is called "suku-garasu" (SG) in Okinawa. On the other hand, the uncooked, salted and fermented fish are manufactured traditionally also in the Noto Peninsula, Ishikawa Prefecture, facing the middle of the Sea of Japan (in the temperate zone). It is salted for several months until it becomes red. It is made of squid or mackerel, and salt only. In this study, to determine the existence and populations of halophilic bacteria in the salted fish products, the bacterial number of the products was enumerated using the plate agars containing 0 to 20 % (w/v) NaCl. The effects of NaCl concentration and temperature on the growth of five strains were isolated from SG. Salted squid and salted mackerel were also determined to consider the relationship between the characterization of predominant bacteria and the salinity in the foods, manufacturing location areas, or kinds of raw materials.

The number of halophilic bacteria and their chemical compounds in SG and other salted and fermented fish products made by traditional methods in Japan differed by kinds of fish, methods of manufacture, factories, and NaCl concentrations. In four of five SG containing from 21.1 to 27.8 % (w/v) NaCl, the bacterial number was only 10^3 cfu/g or lower. For the other SG containing 16.0 % NaCl, there were 10^7 cfu/g of halophilic lactococci with high levels of lactic acid and water-soluble proteins, free amino acids and volatile basic nitrogen. In salted mackerel, the number of halophilic lactococci was 10^5 cfu/g, which was higher than that in salted squid. Two salted mackerel samples that contained from 22.3 to 24.0 % NaCl had a high level of lactic acid. However, the lactic acid concentration was very low in the samples of salted mackerel containing 27.9 % NaCl. Furthermore, although the predominant genus in the well-fermented products was *Tetragenococcus*, a moderately halophilic lactococcus, the reactions of the isolates to NaCl concentrations, temperature and carbohydrates were variable. We consider the results to be very appropriate as to the quality of the products.