九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

鹹水の醗酵に就て

秋本, 信吉
九州帝國大學農學部

https://doi.org/10.15017/20774

出版情報：九州帝國大學農學部學藝雜誌. 3 (2), pp.148-153, 1928-12. 九州帝國大學農學部
バージョン：
権利関係：

KYUSHU UNIVERSITY

鹹水の醱酵に就て

（豫　　報）

秋　本　信　吉

（昭和三年九月二十九日受領）

研究の目的

食鹽の給源を海水に受くる地方は各國を通じて可なり廣い範圍に亙つて居るが我國內地に於ては天候の影響を被ること甚しきが故に所謂天日製鹽法なるものは行はれず專ら鹽田法のみが實施されて居る。之に依れば海水中から食鹽を得るばかりでなく他の多くの不純分も混入し來り製造上の困難が伴なひ從つて食鹽の品質の上にも大きな影響を及ぼすのである。斯様にして得らるゝ鹹水を精製す可き工夫は色々計畫されて居るが主として物理學的化學的方面のもののみで生物學的に研究されたのは未だ聞かない。

余は湯川教授の指導に依り生物化學的見地から特種の細菌を使用し此の問題を研究した。其の概要を茲に豫報する。

豫備試驗

我が國で專ら製鹽上に使用して居る鹹水はボーメ十九度內外のもので其の中に不純分として石灰，苦土の鹽類を主として含みこの他嫌ふ可き不純分としては鐵鹽類並びに有機物が鹹水の着色物として混合して居る。

此等の諸成分中石灰及び苦土の鹽類は製品の品質を劣下せしめ又鹹水煎熬の際に石灰鹽類（主として石膏の形態をなす）は罐石生成の大なる原因をなすものとして知られ鐵其他の有機物は製品の色相に大きな關係を持つて居るものである。鹹水が硫酸鹽還元性細菌によつて醱酵される際にこれらの不純分の及ぼす關係を簡單に說明すれば次の如きものである。

鹹水中の石灰は主として硫酸鹽，苦土は硫酸鹽と鹽化物との形に存在せることは一般に知られてある。又炭酸鹽としても存在し得るが溶解度の關係から殆んど存在せずと考へてよい。

今これらの鹽類と有機物とを含む培養基に硫黃細菌を接種すれば硫酸基の還元作用が起つて其の爲めに遊離されたるエネルギーに依りて有機物を酸化するの作用が起り硫化水素と炭酸瓦斯とを發生し所謂硫化水素醱酵（Schwefelwasserstoffgärung）なる現象を呈するに至る。

かゝる現象は古くより知られたる事實[1]で海底，溜水，池等に於て屢々見受けられ又製鹽關係の書物[2]にも米國などで天日製鹽の道程に於て硫化水素を除去することが各所に報ぜら

れてゐる事實や我國製鹽業者間にも鹹水溜から雞卵の腐敗した時の様な臭ひが發生されると云ふ事實などが認められて居る。この際同時に鐵分は硫化物として除去され有機物は消費されて精製の目的が達せられる様に思はれる。

余は以上の如き想像の下に BEIJERINCK, van DELDEN[1], M. DUGGELI[3] 及び WERNER BAVENDAMM[4] 等の研究報告並びに著書を基礎として實驗を試みた。

細 菌 の 分 離

細菌の分離に當つて van Delden[1] の人工培養基を使用することゝした。其の組成は次の通りである。

井　　水	100
燐酸二加里	0.05
乳酸曹達	0.5
アスパラギン	0.1
硫酸苦土	0.1
硫酸第一鐵	痕跡

即ち以上の組成を有する培養基をば豫め殺菌したる150 c.c. 內容三角フラスコの數箇に100c.c. 宛を取り試料を接種した。試料として始め九州帝國大學農學部附屬農場水田，圃場，溜池の土壤並びに水を使用し土壤は約 1g. 水は 1c.c. を取つて接種し 30°C 定溫器內に置き毎日其の狀貌を觀察したが其の模様は次の通りであつた。

第二日　液が僅かに混濁を呈した。
第四日　液面に薄く光澤なき灰色の被膜を生じた。
第十日　液が次第に清澄し來て被膜以外のものは沈降して來た。
第十二日漸く暗黑色の硫化鐵の浮游性沈澱を見た。
　　其の後毎日その黑色化の度を增して來た。

上記のものから純粹培養を行ふために BURRI 氏法により分離して鏡檢した所によれば BEIJERINCK 氏の *Spirillum desulfuricans* に類するものであることを知つた。

然れども本菌は食鹽に對する抵抗力試驗を行つた所によれば 1% の食鹽含量までは通常の通りに發育するもそれ以上のものには全く發育し得ないことを知つたから研究目的に不充分なものとして試驗圈外に放棄した。

曾て van DELDEN が海水中から分離した *Msp. æstuarii* なる細菌は食鹽の存在しない培養基では全く硫酸鹽類の還元作用を起すことなきに反し食鹽が存在すれば其の含量が 18% のものでも還元作用の顯著なことを報告してゐる。

次に余は好鹽性細菌が食鹽の結晶中又は其の表面に附着してゐるとすれば耐鹽力の强いものが居るであらうと想像するけれ共內地鹽は煎熬法に依り製造されたものであるから製鹽行

程に於ける加熱のため之から目的とする好鹽性細菌を分離し得る可能性極めて少きを推定し直ちに天日製鹽法に依る試料に就て試験した。即ち福岡市西町再製鹽製造所から分與された青島並等鹽及び其の貯藏庫底土とを DELDEN 液の各 0, 3, 5, 10, 15, 20, 25% の食鹽を含むものに接種し液面を流動パラフィンで重疊して 30°C に放置したるに第十日目には 5% のものに目的とする細菌の存在するを確め更にこゝに得たる菌液の一定量づゝを上の如き濃度の食鹽を含む培養液に接種したる結果によれば 25% 迄は明かに發育し得ることを認めた。

此等の培養液内に於て細菌發育の狀態を觀察せるに始めは混濁を生ずるけれども硫化水素の發生することなく次第に時日の經過と共に其の混濁度を減じ其後再び新たなる混濁を生じ更に其の後は盛んに硫化水素の發生を認めた。

此の現象は興味ある事實であつて最初に發育する細菌類は好氣性なるが故に其の培養基中の酸素の減少と共に其の繁殖は衰退するに至り漸く嫌氣性たる硫黄細菌は發育を始め其の生成したる硫化水素のために好氣性細菌は遂に害せらるゝに至るものと考へらる。

其後更に專賣局三田尻試驗場より分與されたる關東州，臺灣，青島，佛國ジロー，埃及產の天日製鹽の各種からも常に此好鹽性硫黄細菌の發育を見た。又內地鹹水（東京地方專賣局管內船橋產）よりも同樣の事實を認めた。

然るに一方には福岡市博多魚市場產鯨鮭鱒等の鹽藏物並に野菜鹽漬の數種に就き細菌の分離を試驗したけれ共遂にその存在を認め得なかつた。

純粹培養

豫め 1% 炭酸曹達を加へて PH=7 となしたる 5% 食鹽含有 Delden 寒天培養基に前記の培養を接種したる後高層培養に附し 30°C の定溫器內に置いた。三十日後には特徵ある黑色の斑點を認め其後次第に擴大して明かな Liesegang 環を表はすに至つた。

上記の如くして得たる聚落を液體培養基に移すに當り液中に溶解せる酸素を驅逐する目的を以つて SEIGO HOSOYA & SHIGEKI KISHINO[6] 兩氏の方法を採用した。即ちシスタイン鹽酸鹽の一定量を加へ次に $\frac{n}{10}$NaOH にて PH を矯正したる後接種培養するのである。この際シスタインは液中の酸素に依つて酸化されてシスチンとなり同時に嫌氣狀態を與へる理に基くもので硫黄細菌の培養に好適してゐることを認めた。シスタインは鹽酸鹽 0.01 g. をば 5%食鹽を含有する DELDEN 培養液 10 c.c. に加へ 10 分間加熱して後に 1% 炭酸曹達を以つてPH=7.2 となすに要するアルカリ量を決定しおき別に同樣に所理したる試驗管に必要量 (0.1 c.c.) の 1% 炭酸曹達を加へ振盪し後五分間（メチレン青を褪色するに要する時間）にして前記の如くして得たる細菌聚落を之に接種し保溫すれば 16 時間後に盛んなる發育を認めた。

工業的見地より好鹽性硫黄細菌の培養

硫酸鹽還元性硫黄細菌の培養に當り嫌氣的狀態にては速かに且つ盛んに發育するに至るを知りたるが故に工業的見地から此細菌を用ひ鹹水精製に關し次の實驗を試みた。

使用鹹水は專賣局三田尻試驗場から分與されたるものなるが其比重はボーメ十七度の淡黄色の清澄液にして之が含有する硫酸總量は1立中 33 g. である。先づ此鹹水 50 c.c. を取り 0.1 g. のシスタイン鹽酸鹽を添加し $\frac{n}{10}$NaOH を加へて PH=7.2 となし之に豫め 20% 食鹽含有 Delden 液に於て十日間培養せる種液 0.5 c.c. を接種し流動パラフィンを重疊せしめ 30°C に保つた。二週日後にシヤンベルラン濾過器を通過せしめたる培養液に就き常法の如く硫酸の定量を行つたが一例を示せば次の通りである。

培養前の硫酸總量 (鹹水 10 c.c.)	培養後の硫酸總量	分 解 量	分解割合
0.3645 g.	0.2592 g.	0.1047	28.90%

次に鹹水を工業的に嫌氣狀態たらしめる目的から硫化水素を通じて試驗を行つた。此場合には次の如き反應に依りて鹹水中から酸素が除かれることゝなる。

$$H_2S+O=S+H_2O$$

50 c.c. の供試鹹水を 150 c.c. 內容試驗管に取り 0.02% メチレン青を 2 滴だけ加へ之に毛細管の一端から硫化水素を通じたるに速かに褪色さるゝを見た。其有效量を檢するため行へる多數實驗結果から 7 c.c. の瓦斯を通ぜば五分間にて嫌氣狀態を與へ得ることを知つた。其時の反應は恰もフエノールロートに中性を與へ細菌に對し極めて良好なる結果を及ぼすを知つた。

故に硫化水素を通じて嫌氣的狀態を與へたる鹹水に種液を接種して硫酸鹽の還元分解狀態を試驗したる結果は次の通りである。

	培養前の硫酸總量	培養後の硫酸總量	分 解 量	分解割合
一週日後	0.3523	0.3149	0.0374	11.87%
二週日後	0.3523	0.2378	0.1145	32.51%

結 論

1. 內地產鹹水並に朝鮮, 臺灣, 關東州, 青島, 埃及, 佛國產天日製海鹽から好鹽性硫酸鹽還元細菌を分離することが出來た。

2. シスタイン鹽酸鹽を Delden 培養基に添加して嫌氣狀態を與ふれば極めて良好なる發育狀態をあらはす。

3. 工業的に此細菌を利用し鹹水を醱酵せしめて精製を行はんが爲めに鹹水中に硫化水素

を通じたるものに接種したる試驗に依れば二週日後に全硫酸量の三分の一が分解されてゐたことを知つた。

擱筆に臨んで終始懇篤なる教示を賜はりたる湯川教授並びに貴重試料を分與された專賣局三田尻試驗場長久保田技師に對し謹んで謝意を表す。（昭和二年三月）

附記 最近 *Saslawsky* (Zur Frage der Wirkung hoher Salzkonzentrationen auf die biochemischen Prozesse im Leimanschlamm. Centbl. Bakt. II. 73, 18-28, 1928) 及び *Rubentschick* (Über Sulfatreduktion durch Bakterien bei Zellulosegärungsprodukten als Energiequelle, Ibid. 483-496) の報告に接したるが余の細菌との關係に就きては追つて發表す。

參考文獻

(1) Beijerinck: Über *Spirillum desulfuricans* als Ursache von Sulfatreduktion, Centrbl. Bakt. II, 1-9, 48-59, 104-114, 1895.

van Delden: Beitrag zur Kenntnis der Sulfatreduktion durch Bakterien, Centrbl. Bakt, II, 81-94, 113-118, 1904.

(2) W. C. Phalen: Technology of Saltmaking in the United States. (1917).

(3) M. Düggeli: Die Schwefelbacterien. (1919).

(4) Werner Bavendamm: Die falblosen und roten Schwefelbakterien des Süß- und Salzwassers Grundlienien zu einer Monographie. (1924).

(5) S. Hosoya & S. Kishino: The Sientific reports from the Government Institute for Infections Diseases, Tokyo. IV. 1925.

ON THE FERMENTATION OF BRINE

(Preliminary report)

(Résumé)

Nobuyoshi Akimoto

In Japan proper where the climate is unfavorable to the production of salt from sea water by solar evaporation, salt field process only is utilized its manufacture. As the brine obtained by this process contains comparatively large quantities of sulphates and other ingredients, it is unavoidable that they should cause much trouble in the production of pure salt. While both physical and chemical methods are in use for the purification of the brine, we have never been informed of the application of any biological

process to it.

The writer has made an investigation as to the possibility of isolating any halophilic bacteria which have a strong reducing power on the troublsome sulphates in the brine.

In the first experiment, using van Delden's medium, the writer obtained a species of bacteria, from some waters and soils in the farm of the department of agriculture, which resembles Spirillum desulfuricans Beijerinck. However the bacteria isolated were excluded from the scope of the investigation because they could not be developed in a medium containing over one percent. of sodium chloride.

Next, the writer confirmed the presence of the desired halophilic bacteria not only in every sample of solar salt from Taiwan, Tsingtau in China but also in a sample of Japanese brine from Funabashi. The durability of these bacteria in salt solution is so great that it can certainly develop in van Delden's medium, which contains twenty five percent. of sodium chloride, under anaerobic conditions. Moreover the halophilic bacteria along with the development in the medium, produce sulphuretted hydrogen gas vigorously.

The successful development of these bacteria can be accomplished in van Delden's medium which is kept in anaerobic condition owing to the addition of Cystein hydrochloride.

From the industrial standpoint, the author has attempted the application of these interesting bacteria to the purification of the brine. The seed culture of these bacteria were inoculated in the brine, which was maintained in anaerobic condition by passing the proper quantities of sulphuretted hydrogen through it. It was found that one third of the total quantities of the sulphates in the brine was reduced by these bacteria after two weeks at a temperature of 30°C.