魚類肝臓中の發微防止成分(豫報)*

On the unknown principle in fish liver which prevents the
growth of moulds. (preliminary report)

山田紀作・篠山茂行 K. YAMADA, and S. SASAYAMA

(水産試験場)

The following facts were found that the growth of mycelium and spore showed different phase, being compared with control, when the boiled extract of the bonito liver was added to the culture medium, and that the growth of mould was prevented when the extracted solution was only used as the culture medium.

緒 言

動物の臓器中、特に肝臓の機能に関しては昔から数多くの医学的研究結果があるが、あまりにも廣範圍の生理作用に関與している爲、現在でも尙其全貌を窺い知り得ない程暗黒大陸の様相を示している。特に魚類のそれに就いては種々の点に於て陸上動物のそれとは異つた生理機能を有するものと推察される。近代營養学の寵兒である「ビタミン」類中脂溶性の「A」及「D」は魚類特に深海産のものの肝臓中に高濃度のものが多いと云う事は今更云う迄もないところであるが、其他の成分に就いても種々の興味ある研究結果が挙げられている。例えば鯨肝臓の非蛋白質窒素化合物に就いては谷沢氏¹⁾の報告、鮭、鱒類の肝臓酵素に就いては二戸氏²⁾の報告、鱈、鱈肝臓の含窒素化合物に就いては吉村、西田両氏³⁾の報告があり、鰹肝臓に就いては、田村、吉原両氏⁴⁾は生原料より結晶性物質を得、吉村、西田両氏⁵⁾は新鮮物より各種の含窒素化合物を分離している。又清水、内田両氏⁶⁾は鰹内臓中、胃、幽門垂及び肝臓の塩辛に就いて、其アミノ酸生成量に関する実験報告がある。以上の如く魚類の肝臓に関しては、種々の報告に接するが、特に肝臓に就いての發微防止成分に関しては、其報告は見受けられない。即ち筆者は塩蔵せる鰹肝臓の水に依る加熱浸出液は、これを微培地に添加する事に依り、微菌株接種後の菌糸の發育、芽胞子の着生は、対照のものに比較し、異つた狀況を示し、且つ該浸出液のみを培地とし、これに微菌株を接種したときは、發微の現象を認めない事を觀察した。これに依り鰹塩蔵肝臓中には發微を防止或は抑制する成分が含有せられているのではなからうかと推察し、それに就いて行つた基礎的実験結果を報告する。

実 験

実 験 I.

乳酸菌合成培養基に於て、peptone の代用に鰹塩蔵肝臓の水に依る加熱浸出液(以後は單に肝臓浸出液とよんでおく)を使用したとき乳酸菌々体の増減量測定と外観的觀察。

○肝臓浸出液調製法

鰹塩蔵肝臓 100 量 + 水 50 量 → 加熱(コッホ氏殺菌釜にて 1 時間)

→ 濾過 → 濾液(肝臓浸出液)

500 cc. 容三角コルベンにて Table 1. の如き組成の培養基を調製し、常法に依り滅菌の後、乳酸菌 *Bacillus Delbrucki*. を 3 白金耳試験管純粋培養せるものより移植し 32 °C に 9 日間保ち、乳酸菌々体の増減量を混濁計に依り測定し Fig. 1. の如き結果を得た。更に本培養基を 10 日目にコルベンの綿栓を取り、30 分間空氣中に放置の後再び綿栓を施し 32 °C に保ち微の發生の有無を觀察した。その結果

(昭和 24 年 5 月 30 日受理)

* 水産試験場業績 第 152 號 (1949)

Table. 2 の如し。

Table 1. Composition of Lactic Acid Bacteria culture medium.

	A	B	C	D	E
KH ₂ PO ₄	0.1 g.	0.1 g.	0.1 g.	0.1 g.	—
MgSO ₄	0.1	0.1	0.1	0.1	—
NaCl	0.2	—	—	—	—
Glucose	15	15	15	15	—
peptone	1.0	—	—	—	—
extract of liver	—	10 cc.	25 cc.	50 cc.	200 cc.
water	200 cc.	200	200	200	—
salt	0.1 %	0.95 %	2.2 %	4.0 %	20 %

Table 2. The growth of mould on the culture medium.

days culture medium	1	2	3	4	5	6	7	9
A	No variation	White mycelium was slightly found	White mycelium was found around the flask	Liquid surface was covered by white mycelium	Brown spore was found	Liquid surface was covered by spore	same as left	same as left
B	No variation	No variation	No variation	No variation	No variation	No variation	No variation	No variation
C	No variation	No variation	No variation	No variation	No variation	No variation	No variation	No variation
D	No variation	No variation	No variation	No variation	No variation	No variation	No variation	No variation
E	No variation	No variation	No variation	No variation	No variation	No variation	No variation	No variation

考 察

イ、乳酸菌培養基の組成中 peptone の代用に肝臓浸出液を使用したところ、乳酸菌々の増減量は Fig. 1 に示す如く D が最も増加し、C, E, B, A, の順次で肝臓浸出液の添加に依り菌体は増加の傾向を示し、peptone の代用として良好であるばかりでなく、菌体増殖にも好適のものであると考えられる。

ロ、上記の実験終了後三角コルベンの綿栓を取り空気中に 30 分間静置し、再び綿栓を施し、32°C に保ちたところ、Table. 2 に示す如く A には黴の発生を認めたが、他の B, C, D, E にはこれを認めなかった。これに依り黴の発生は肝臓浸出液の添加に依り防止せられたものと思われる。

実 験 II.

マグロ肉汁に肝臓液出液を添加した培養基の黴の発育状況観察

○マグロ肉汁調製法

Fig 1. Increase and decrease of lactic acid bacteria.

Table 3. Composition of culture medium.

	kind of culture medium
(A ₁)	extract of tuna meat 100 cc.
(B ₁)	extract of tuna meat 100 cc. + extract of liver 10cc.
(C ₁)	extract of tuna meat 100 cc. + extract of liver 25 cc.
(D ₁)	extract of liver 100 cc.

夫々異つた状況を呈した。即ち肝臓浸出液の添加量の多量になるに従い芽胞子の着生は不良となり且つ肝臓浸出液無添加の培養基と異つた色調を呈し、(C₁)に於て既に培養基液面に菌糸は認められず、(D₁)に至りて培養基には変化は全く認められない。即ち肝臓浸出液中に発微を防止或は抑制する成分が含有せられているものと思われる。

実験 III.

対照試験として Henneberg 合成培養基に NaCl を添加し、NaCl 濃度の高低に依る微の発育状況観察

- 培養基: Henneberg 合成培養基 (peptone を含まぬもの)。
- 培養基食塩濃度: 0%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 50% の八種。
- 菌種: Asp-Katubusi, Asp-melleus, Asp-Pseudoflavus, Asp-oryzae soya の四種。
- 培養方法: 試験管斜面培養, 三角コルベン液体培養全固体培養の三種。
- 培養温度: 35°C~37°C。
- 培養期間: 5 日間。

上記の如き條件に依り常法に従い滅菌の後各菌種を夫々白金耳にて移植し、微の発育状況を観察した。その結果 Table 5, Table 6 の如し。

マグロ鮮肉→肉挽 (肉量 250 量)→水
添加→煮熟→濾過→濾液 (500 量)
濾液に Glucose 5% 添加する。

○肝臓浸出液調製法

実験 I と同様の方法にて調製す。

Table 3 に示した如き培養基 (A₁), (B₁), (C₁), (D₁) の四種を 300 cc. 容三角コルベンにて常法に従い液体培養基を調製し、本培養基に試験管純粋培養せる Asp-oryzae, soya の菌糸を 2 白金耳移植し、32°C に 5 日間保ちその状況を観察した。その結果 Table 4 の如し。

考 察

Table 3 に示した如き四種の培養基に依り、Asp-oryzae, soya の菌糸の発育、芽胞子の着生状況を観察したところ、32°C, 5 日目で Table 4 に示した如く

Table 4. The growth of mould.

	Asp-oryzae-soya (On the fifth day)
(A ₁)	The green spore was found. Culture solution was transparent.
(B ₁)	Brownish green spore was found. Culture solution was not transparent.
(C ₁)	mycelium was not found on the liquid surface.
(D ₁)	No variation.

Table 5. The growth of mould by sloping culture of test tub (on the fifth day)

mould \ salt	0. 5. 10 %	15 %	20~50 %
Asp-Katuobusi	Growing condition was regular	The white mycelium was partly found. Growing condition was bad. The dissolution of agaragar was found.	The growth of mycelium was not found. Agaragar being dissolved. The sloping form was not kept.
Asp-Pseudoflavus			
Asp-melleus			
Asp-oryzae soya			

Table 6. The growth of mould (Asp-oryzae-soya) in Erlenmeyer flasks (on the fifth day) .

kind of culture medium \ salt	0.5 %	10 %	15 %	20~50 %
liquid culture	Light green spore was found. Growing condition was regular	same as left.	The white mycelium with wrinkle was partly formed. The spore was not found.	No variation
solid culture (agaragar 2 %)	Dark green spores were found. Growing condition was regular.	The green spores were partly formed.	The white mycelium was partly found. The spore was not formed.	The mycelium was not found. The dissolution of agaragar was found.

考 察

本條件に従い各培養基の菌の發育狀況を觀察したところ、試験管斜面培養、三角コルベン液体培養及固体培養の三法とも何れも NaCl-濃度 0 %を対照としたとき 10 %迄は対照と全様の發育を示すが、15 % のものは試験管培養に於ては菌糸の形成は一部分にわずかに見られる 程度で勿論芽胞子の着生は認められず、培養基は寒天の溶解をわずかに認め、20 %以上の NaCl-濃度のものは寒天は殆んど溶解し、斜面を保つ事困難となる。一方三角コルベン培養基は液体、固体両法とも試験管斜面培養と全様の觀察結果を得た。本実験は次項目に述べる肝臓浸出液を培地としたときの対照試験として実施したものである。

実 験 IV.

肝臓浸出液を培養基とし、その NaCl 濃度の高低に依る菌の發育狀況觀察。

○培養浸出液：実験 I と全様の方法にて調製す。

○肝臓の水分及塩分：原料固形物水分—48 %，塩分—30.71 %，浸出液塩分—20.47 %。

○培養基食塩濃度：浸出液を水にて稀釈し，NaCl-濃度を 5 %，10 %，15 %，20 % に調節す。

○菌種：Asp-oryzae-soya.

○浸出液 pH: HCl で 5.4 に調節す。

○培養温度：35°C ~ 37°C.

○培養期間：5 日間。

上記の條件に従い肝臓浸出液各々 100 cc. 宛を 300 cc. 容三角コルベンに採り、これを培地とし常法の如く滅菌の後、試験管純粋培養せる *Asp-oryzae-soya* の菌株を 2 白金耳接種し、微の發育状況を觀察した。その結果 Table. 7 の如し。

Table 7. The growth of mould in the culture medium with the extract of liver. (on the fifth day)

mould	salt	5 %	10 %	15 %	20 %
<i>Asp-oryzae soya</i>		The white film with wrinkle was partly formed, the formation of greenish yellow spores was slightly found.	The film was partly formed.	mycelium was not found.	No variation.

考 察

肝臓浸出液培養基の微の發育状況を實驗 III と比較すれば、5 %食塩濃度では後者はその發育は正常であるが、前者は Table. 7 に示す如く異つた菌糸、芽胞子の發育を示し、且つ異つた芽胞子（菌叢）の色を示した。10 % ではその状況は更に不良となり、15 % 以上では菌糸の發生は認められず、何れも實驗 III のそれよりも不良であつた。即ちこれより推察すれば肝臓浸出液中には微の發育を防止抑制する成分が含有せられているものと思われる。

要 約

鰹の塩藏肝臓を搗潰し、これに水を添加し加熱浸出せる浸出液を常法培養基に添加したところ、

1. 肝臓浸出液は乳酸菌培養基の peptone の代用になり得る。
2. 肝臓浸出液をマグロ加糖肉汁培養基に添加したときは、微の發育はその添加量大なるに従い不良となり且つ異つた菌叢の色を示す。又肝臓浸出液を培養基としたときは、これには微の發生は認められない。
3. 肝臓浸出液の食塩濃度を 5 %, 10 %, 20 % に蒸留水を以つて調節し、該液を夫々培養基としたとき、その微の發育状況を常法培養基の全濃度の食塩濃度のものと比較すれば、何れもその發育は不良で且つ異つた菌糸の發生様相、菌叢の色を示す。

結 語

肝臓浸出液の發微防止成分は、本実験觀察より推察すれば、それは肝臓浸出液中の食塩では無く他の物質が微の發育を防止しているものと思われる。尚肝臓浸出液培地に微の發育を認めない事は、微に対する培地營養源の不足とも考えられるが、是等に就いては今後の研究課題とする。

参 考 文 献

1. 谷沢,; J, J, M, B, 2, 43, (1933)
2. 二戸,; 水産研 31, 378, (1936)
3. 吉村, 西田,; 農化 5, 854, (1929), 農化 6, 927 (1930)
4. 田村, 吉原,; 水産研, 31, 460 (1936)
5. 吉村, 西田,; 農化 6, 113 (1930)
6. 清水, 内田,; 水産製 3, 223 (1735)
7. 宮路,; 應用微菌学, 應用篇 164, 実施篇, 429 昭 22.