好 氣 性 腐 敗 細 菌 に 對 す る 木 醋 液 の 抗 菌 作 用

Antibiotic Action of of Pyroligneous Acid on Some
Aerobic Saprophytes.

高 瀬 明 AKIRA TAKASE

(東大農学部 水産学科)

As is well known, pyroligneous acid solution has an antiseptic effect on food storage. In the present study this antiseptic effect was bacteriologically investigated on typical 8 species or 8 strains of the aerobic saprophytes — the bactericidal ability, bacteriostatic concentrations of pyroligneous acid and its bactericidal agents were examined.

For measuring the antibiotic action on these organisms, the pyroligneous acid solution which is the by-product of charcoal destructive distillation was used; with the result that this pyroligneous acid possessed apparently antibiotic action on these organisms. Considering with the data obtained, the agents of bactericidal and bacteriostatic action of pyroligneous acid appear to be not contributed with the only effect of pH or undisassociated molecule of acetic acid.

緒 言

従来より木材燻煙が抗菌力を有し、燻製品の保存食品的価値に重要な役割を果して居ると云う事が Lafer¹⁾, Hess²⁾, Sanborn³⁾ 氏等に依つて報告されて居る。従つて、その主要成分の一つである木醋液が、又抗菌力を有するであろうことも容易に想像され、又実際にその食品に対する防腐効果が Nencki, Sieber⁴⁾, 岩垂⁵⁾ 小幡, 他⁶⁾ 等の諸氏に依つて認められて居る。

そこで筆者は、この点を更に細菌学的立場から確めるため、代表的好気性腐敗菌に対する、木醋液の抗菌作用に就て実験を行つた。但し、云うまでもなく、木醋液と称するものには色々を品質のものがあり、成分も一定せぬから、常に一定の成績となり得るか否かは不明であるが、抗菌力について特有の傾向が認められる様に考えられるのでここに報告する。

実 験 材 料

本実験に用いた木醋液は大洋漁業月島加工場より分与を受けた木炭乾溜時の副産木醋液で、その主な性状は次の如くである。

色調：帯緑褐色（塩酸強酸性にすれば褪色する）若干タール分と思われる混濁を呈する。

臭気：刺激臭はなく、煙臭が強烈である。

味：酸味と若干の渋味を有するが苦味はない。

比重：Bé 2.8

pH：3.0（指示薬法及 Antimony 電極法に依る）

酸度：2.0%（醋酸として）

尚、被検菌としては、千葉医大腐敗研究所より分与を受けた主として腐敗魚介類より分離せる好気性腐敗細菌 8 菌種 8 株を用いた。

（昭和 25 年 4 月 15 日受理）

実験 I. 殺菌時間

木醋液を実際に燻製液として使用する場合、通常原液を常水にて2~3倍容に希釈して浸漬液とする。故に本実験に於ては2.5倍液について実験を行い、更に実際の場合には、浸漬材料による種々の希釈度が当然考えられるので、更に5倍、及び10倍の各希釈液についても実験を行った。

実験方法：普通 Bonillon (pH 7.0) にて、上記各倍数に原液を希釈し、被検液とする。その10c.c. に対して普通寒天斜面、27°C、24時間培養を3日繰返して得た各被検菌を常法に依り、夫々1標準白金耳量づつ植え、27°Cに保ち、一定時間毎に、その1白金耳を普通 Bonillon 培地 10c.c. に移植し、27°C 48時間培養を行つて生死を判定した。

実験成績及考察

実験結果は表に示す如くである。

(Table 1) Relative times taken for sterilization of each aerobic saprophyte in the diluted pyroligneous acid solution.

Dilution		× 2.5	× 5	× 10
Strains	pH →	4.0	4.8	5.2
		(min)	(hr)	(hr)
<i>Pseudomonas schnylkillisnsis</i>		20~30	4~4½	10
<i>Flavobacterium fuscum</i>		10~20	4	10
<i>Achromobacter liquidium</i>		5~10	3~3½	8
<i>Proteus vulgaris</i>		50~70	6	12~14
<i>Escherichia coli</i>		90~100	7½	16~18
<i>Serratia marcessens</i>		100~110	7~7½	16~18
<i>Micrococcus subflavus</i>		50	6½	12
<i>Bacillus subtilis</i>		30~40	5	10

則ち、2.5倍容希釈液(浸漬用液)中に於ては、最も抵抗の弱い *Achromobacter liquidium* が5~10分にて既に死滅し、比較的抵抗の強い *Serratia marcessens* も2時間にて死滅して居る。

而して、特に魚類等の重要な腐敗菌として知られて居る、*Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Achromobacter* 等が新に作成された浸漬用液中に於て20~30分以内に死滅することを認めた。

又5倍及び10倍希釈液に於ては夫々3時間乃至7.5時間、及び8時間乃至18時間の間に細菌は死滅して居る。故に浸漬液(2~3倍溶液)中に相当多量の原料を浸漬した場合でも、この程度の時間放置すれば可成り防腐効果が、あがる事も推定し得る。勿論、之は本実験の如き分析的結果から推論し得るのみであるから、之等の点に關しては、今後の他の研究に待たねはならない。

実験 II. 殺菌及び静菌的 (Bacteriostatic) 最高希釈度

実験 I. を行つて居る間に、20倍希釈液に於ては、菌種により、最早死滅する事なく、發育を示すもののあるのを認めたので、各菌を死滅せしめ得る最高希釈度を求めた。又、その間、發育可能域に於ても尚、静菌作用の存在するのを認めたので、その作用限界をも求めて見た。

実験方法

被検液の作成及び被検菌の植菌等、総て実験 I. に準じ 27°C、48時間培養後、判定及測定を行つた。

殺菌最大希釈度の判定は実験 I. と同様、被検液1白金耳を普通ブイヨン 10 c.c. に移植し生死を確かめた。静菌作用の検定には比濁計を用い植菌当初の読みを0とし、対照の普通ブイヨン中に於ける正常

発育の場合の読みを 100 として表わした。

実験成績及び考察

本実験の結果はオ 2 表に示す如くである。

(Table 2) Bactericidal or bacteriostatic action of the pyroligneous acid and relative growth index of each aerobic saprophyte in the higher diluted solution. The index was represented with the turbidity of each tube on turbidimeter.

Dilution		× 10	× 15	× 20	× 30	× 40	× 80	× 160	× 320	Cont.
Strains ↓	pH →	5.2	5.4	5.7	6.2	6.4	6.6	6.9	7.0	7.0
<i>Pseudomonas schnylkilliensis</i>		—	—	—	20	80	95	100	100	100
<i>Flavobacterium fuscum</i>		—	—	—	40	90	95	100	100	100
<i>Achromobacter liquidum</i>		—	—	—	—	50	65	90	100	100
<i>Proteus vulgaris</i>		—	—	20	50	50	100	100	100	100
<i>Escherichia coli</i>		—	±	25	65	100	100	100	100	100
<i>Serratia marcessens</i>		—	10	15	95	100	100	100	100	100
<i>Micrococcus subflavus</i>		—	±	20	50	95	100	100	100	100
<i>Bacillus subtilis</i>		—	—	±	30	85	100	100	100	100

オ 2 表を要約すればオ 3 表の如くなる。

(Table 3) Bactericidal and bacteriostatic maximum degree of dilution of the pyroligneous acid to the survive saprophytes.

Strains	Bactericidal	Bacteriostatic
<i>Pseudomonas schnylkilliensis</i>	× 20	× 80
<i>Flavobacterium fuscum</i>	× 20	× 80
<i>Achromobacter liquidum</i>	× 30	× 160
<i>Proteus vulgaris</i>	× 10	× 40
<i>Escherichia coli</i>	× 10~15	× 30
<i>Serratia marcessens</i>	× 10	× 30
<i>Micrococcus subflavus</i>	× 10~15	× 40
<i>Bacillus subtilis</i>	× 15~20	× 40

オ 2 表、及びオ 3 表に依れば、細菌の種類に依る抵抗性の差は実験 I. の結果の傾向と略々平行的であり、最も弱い *Achromobacter* が 30 倍以下、最も強い *Serratia* が 10 倍以下の稀釈濃度に於て死滅せしめられている。則ち此の結果より、本木醋液は少くとも 30 倍以上に稀釈されて用いられた場合には殺菌力を失うと思われる。しかし、尙静菌作用を呈し *Achromobacter* に対して 160 倍、*Serratia* 等に対して 30 倍の範囲内まで静菌上有効である。従つて、時により實際加工上、調味の目的を以て 100 ~ 150 倍に本木醋液を稀釈使用する事があるが、この様な場合には何等の防腐効果を及ぼし得ない事が

推論し得よう。

実験 III. 殺菌作用因子に関する考察

実験 II. の結果に関連し、本木醋液の殺菌作用の主要因子を究明する目的で、その原液中の含量から見て醋酸、及びそれに依る pH の影響を想定し、猶その他の因子の有無を驗するため、次の如き簡単な実験を行い、その一助とした。

実験方法

オ2表中の各稀釈濃度液に於ける pH と同 pH 液を造るため、醋酸及び塩酸を以て普通ブイオンを修正し、之を被検液として、植菌、培養、判定を実験 II. に準じて行つた。

実験成績及び考察

実験結果はオ4表に示す如くである。

Table 4: Growth of each aerobic saprophyte in the broth media adjusted in various pH with hydrochloric acid and acetic acid. pH of this media are parallel to pH of the diluted solution in Table 2.

prepared pH		5.2	5.4	5.7	6.2
Strains ↓	corresponded d'lution →	× 10	× 15	× 20	× 30
Pseudomonas schnylkilliensis	HCl	—	—	+	+
	CH ₃ COOH	—	—	+	+
Flavobacterium fuscum	HCl	—	—	+	+
	CH ₃ COOH	—	—	+	+
Achromobacter liquidum	HCl	—	—	+	+
	CH ₃ COOH	—	—	—	+
Proteus vulgaris	HCl	±	+	+	+
	CH ₃ COOH	±	+	+	+
Escherichia coli	HCl	+	+	+	+
	CH ₃ COOH	±	+	+	+
Seratia marcessens	HCl	+	+	+	+
	CH ₃ COOH	±	+	+	+
Micrococcus subflavus	HCl	+	+	+	+
	CH ₃ COOH	±	+	+	+
Bacillus subtilis	HCl	—	+	+	+
	CH ₃ COOH	—	+	+	+

則ち、塩酸により pH を修正したるものよりも醋酸にて同 pH に、なしたるものの方が若干、殺菌力、大であり、之は既に鉄本⁷⁾に依つて報告されて居る様に、不解離分子としての醋酸の影響と考えられる。

しかし、いずれにしても、之をオ2表の結果と比較すれば殺菌作用が劣る事は明らかで、要するに、本木醋液の殺菌効果は、必ずしも pH の影響又は含有醋酸の作用のみではなく、その他の有効成分が之に与つて効果があるのではないかと推論し得るが、何分本醋液の構成成分が甚だ複雑なるため、殺菌作用の本態に就いての詳論は今後の研究に待たねばならぬ。

総括

(1) 本実験に於ては、液体燐製用木醋液の抗菌作用を確めるため、木醋液の一例を以て代表的好気性腐敗菌 8 菌種 8 株に対する殺菌力、殺菌及静菌の最高稀釈度及び殺菌作用因子等に就き検討した。

(2) 殺菌力は、木醋液の 2.5 倍、5 倍、10 倍の各普通ブイオン稀釈液中に於ける細菌の死滅時間

を以て表わした結果、次の成績を得た。即ち、各菌株の抵抗力は、*Achromobacter liquidum* が最も弱く、*Serratia marcescens* が最も強いが、之等に対して、本木醋液は 2.5 倍液に於て 5 分～1.5 時間、5 倍液に於て 3 時間～7.5 時間、10 倍液に於て 8 時間～18 時間の間に殺菌力を示した。之により本木醋液は実際の使用時の如く、2～3 倍稀釈液に原料を 1 夜程度浸漬する場合には可成り有効な殺菌力を発揮するものと考えられる。

(3) 殺菌及静菌の最高稀釈度は最も抵抗力の弱い *Achromobacter* に対して 30 倍及び 160 倍、最も抵抗力の強い *Serratia* に対して 10 倍及び 30 倍であつた。之により、調味の目的を以て 100～150 倍液を用いる場合等には何等防腐効果がないと思われる。

(4) 殺菌作用因子として、pH の影響及び醋酸を想定し、塩酸及び醋酸にて各種釈液相当の pH に修正したブイヨン中の各菌の發育を驗した結果単に之等のみの作用ではなく、従来報告されて居る如く、その他数多の有効因子が存在することが推定される。尙お之等に就ては追て研究する。

尙、終りに臨み、御懇切なる御校閲を賜つた東海区水研、農学博士鉄本総吾先生に厚く謝意を表する。

参 考 文 献

- (1) Lafer : Handbuch-Teck. Mykologie II, 407, (1908).
- (2) Hess : J. of Bact. **15**, 33, (1928).
- (3) Sanborn : J. of Bact. **19**, 375, (1930).
- (4) 木村 : 水産製造全書 p. (378).
- (5) 岩垂 : 農産製造 **2**, 7—8, (1948).
- (6) 小幡, 他 : 日水会誌 **15**, 3, 147. (1949).
- (7) 鉄本 : 日農化誌 **9**, 1—11, (1933).