

# 海洋性イルカ胃内容液中の微生物数, pH, アミノ酸量, アンモニア量および 低級脂肪酸量

森 井 秀 昭

## The Viable Counts of Microorganisms, pH Values, Amino Acid Contents, Ammonia Contents and Volatile Fatty Acid Contents in the Stomach Fluid of Marine Little Toothed Whales

Hideaki MORII

In order to ascertain whether or not short-chain branched fatty acids in oil of marine little toothed whales are truly produced by deamination of amino acids by the microorganisms in the stomach of the animals, the author studied the viable counts of microorganisms, pH values, amino acid contents, ammonia contents and volatile fatty acid contents in the stomach fluid and the body temperature of the whales, *Stenella attenuata* and *Stenella caeruleo-alba* that were caught alive. The results obtained are as follows.

- 1) The body temperature was mostly about 35°C, but in some cases it was slightly elevated to 37.5°C.
- 2) The pH values of the stomach fluid varied from 1.90 to 8.10 in the process of digestion.
- 3) The bacteria of  $10^3$ - $10^4$ /ml were isolated from the stomach fluid only in the pH area where growth was possible, but isolation was often unavailable even in the pH area where growth was possible.
- 4) The amino acids, ammonia and volatile fatty acids were found in the stomach fluid of all the animals, but relency between those substances and bacteria were not recognized.

前報(1)では、イルカ胃内容液中に iso 吉草酸などの低級分枝鎖脂肪酸(低級分枝酸と略記)が遊離の状態が存在し、またこれら分枝酸は微生物によるアミノ酸の脱アミノ作用で生成されたと考えられること(2~6)を述べた。すなわち、イルカ油脂中の低級分枝酸はこれら胃内で生成する分枝酸に由来すると考えられるが、実験に供したイルカは死後かなりの時間を経過していたので低級脂肪酸(低級酸と略記)の量的関係については検討できなかった。

本研究は生体イルカを用い、胃内容液中の遊離低級酸量をしらべたが、これらの成因が胃内微生物によるアミノ酸の脱アミノ作用に基いたものであるか否かを明らかにするためには、胃内に微生物が存在することはもちろん、反すう動物で見られるように(7~9)こ

れらの低級酸量とアミノ酸量およびアンモニア量との間における相関性が検討されなければならない。これらの理由から胃内容液中の生菌数, pH, アミノ酸量, アンモニア量のほかイルカの体温をしらべ、生体イルカ胃内における低級分枝酸の生成の有無やイルカ油脂中の低級分枝酸との関連性を検討した。

### 材 料 と 方 法

イルカ試料 1973年10, 11月に静岡県伊東市の川奈湾へ追込み後生け捕りしたアラリイルカ *Stenella attenuata* とスジイルカ *Stenella caeruleo-alba* の乳児と成体計24頭を用いた。これらの雌雄別, 体長, 第1胃内容物などを Table 1 に示した。

Table 1. Samples of marine little toothed whales used for experiment.

Sample No	Species	age	Body length (cm)	Ist stomach contents	Body temp. (°C)	Sampling date
1	<i>Stenella attenuata</i>	Nurseling	111	Milk-like juice		Oct.'73
2	"	"	120	"		"
3	"	"	124	"		"
4	"	"	125	Gastric juice (B*)		"
5	"	"	135	" (//)		"
6	"	"	146	Milk-like juice		"
7	"	Adult	184	Gastric juice (light B)		"
8	"	"	193	" (//)		"
9	"	"	198	Squid beaks		"
10	"	"	208	Squid beaks and gastric juice (B)		"
11	"	"	212	Squid beaks		"
12	<i>Stenella caeruleo-alba</i>	"	180	Gastric juice (Y-B)		"
13	"	"	198	Digestive squids and shrimps (R*)		"
14	"	"	207	Gastric juice (Y)		"
15	"	"	212	Digestive squids and shrimps (R)		"
16	"	"	227	Digestive squids (dark B)		"
17	"	"	240	Digestive squids and shrimps (R)		"
18	"	"	260	" (//)	37.5	"
19	"	"	232	Gastric juice (Y-B)	35.5	Nov.'73
20	"	"	235	" (dark B)	35.2	"
21	"	"	238	" (//)	35.3	"
22	"	"	240	" (light B)	35.5	"
23	"	"	246	" (light Y*)	34.8	"
24	"	"	246	" (light B)	36.2	"

Sample 1~11, 12~18, and 19~24 were caught alive from each pack in Kawana Bay at Itou of Izu Peninsula. \* B: Brown, Y: Yellow, R: Red

なお試料1~11および19~24は湾内追込み1昼夜後に、試料12~18は追込み直後に、それぞれ異なったイルカ群から捕獲したものである。

**体温の測定** 捕獲直後のイルカの頸動脈内に温度計を差し込んで測定した。

**生菌数の測定** 捕獲直後のイルカの第I胃 (I胃) および第III胃 (III胃) 内容液中の微生物数をZoBell 2216培地を用い、混釈法で測定した。方法の詳細は前報(2)で述べた通りである。なお生菌数の測定はイルカ試料1~3, 8, 10, 11, 14, 16~24の計16試料について行なった。

**アミノ酸およびアンモニア態窒素量の測定** 捕獲直後のイルカのI, III, IV胃 (あるいは腸) 内容液を別々に採取し (II胃には内容液がほとんど存在しなかった)ので分析できなかった), ドライアイスを加え凍結して実験室に持ち帰ったものを試料とした。アミノ態窒素はニンヒドリン比色法(10), アンモニア態窒素は

フェノール・ハイポクロライト法(11)により、遊離の量を測定した。なおアミノ態窒素は試料19~24, またアンモニア態窒素は試料6, 8, 12, 16~24について分析を行なった。

**低級酸量の測定** 凍結して持ち帰った各胃の内容液のうち, 100ml以上存在した内容液について, 前報(1)と同様にして遊離の低級酸量を測定した。なお, 測定は試料6, 8, 16~20について行なった。

## 結 果

スジイルカの体温はTable 1の通りである。

試料18は37.5°Cとやや高かったが, その他はいずれも35°C前後で, 他の海産哺乳動物(12)とほぼ同じ体温を示した。

供試イルカの胃内容液のpHをFig. 1に示した。

供試イルカの胃内pHは3つの型に分類された。す

なわち、I 胃はII~IV胃に比べ著しく低く、II~IV胃にかけて pH が上昇する場合(1型)、II胃が I 胃およびIII胃より高い場合(2型)、さらに各胃の pH にほとんど差がなく中性付近の値を示す場合(3型)に分けられた。このうち1型は主として I 胃内での消化が活発に行なわれている状態、2型は消化が進行し I 胃内内容物がIII胃に移行した状態、3型はほぼ消化が終了した状態を示すと思われた。

イルカの胃内 pH は供試イルカ間で、また同一個体でも各胃の間で著しく異なった。各胃におけるイルカ間の pH 変動幅は I および III 胃ではそれぞれ 1.90~6.45, 2.35~8.10と著しく大きく、II および IV 胃では 4.40~7.57, 4.20~7.56と比較的小さかった。このような pH の変動は餌料の消化と密接に関連し、消化が活発に行なわれている状態 (I 胃内に餌料が存在し、またIII胃内容液は濁りの度合いが大きかった) では pH は低く、食物の消化が進むにつれて (I 胃内内容物は消化が進行し、またIII胃内容液の色調は淡く、濁度は小さくなり、場合によっては黄色を呈した)pH は上昇すると思われる。また食物の消化がほぼ終了した時点 (各胃とも固形物は見られず、I~IV胃とも黄色を呈する) では I~IV胃の pH にはほとんど差がなくなり、中性に近づく。すなわち、これらの pH は個々のイ

ルカの消化開始時から終了時までの変化を示すと考える。

供試イルカの胃内からの微生物の分離状況と胃内 pH との関係を図 2 に、また微生物が分離された場合の胃内容液中の生菌数を Table 2 に示した。

Fig. 2 に示すように、生体イルカの胃内からは微生物 (すべて細菌であった) が分離される場合とされない場合があった。また分離された場合でも I 胃あるいはIII胃からのみ、あるいは双方からと様々であった。微生物が分離された胃内 pH を見ると、pH3.85 (試料 16) を除くいずれも pH5.91~7.11の微酸性~微アルカリ性の範囲内であった。なお pH3.85の試料から分離された微生物 (細菌の *Vibrio* sp.) は同 pH でも発育が可能であった。また、今回、各イルカから分離された *Vibrio* sp. は 1~2 種で、こうした結果は前報(2)で述べた死後のイルカのデータと同様であった。

Table 2 に示すように、胃内での生菌数は乳児イルカ (試料 1 と 3) では  $10^8$ /ml, 成体イルカでは  $10^4$ /ml のオーダーであったが、この両者の差が成長段階によるものか否かについては明らかでない。

胃内容液中のアミノ酸量と微生物の存否との関係を図 3 に示す。

胃内容液中には微生物の存否に関係なく遊離のアミ

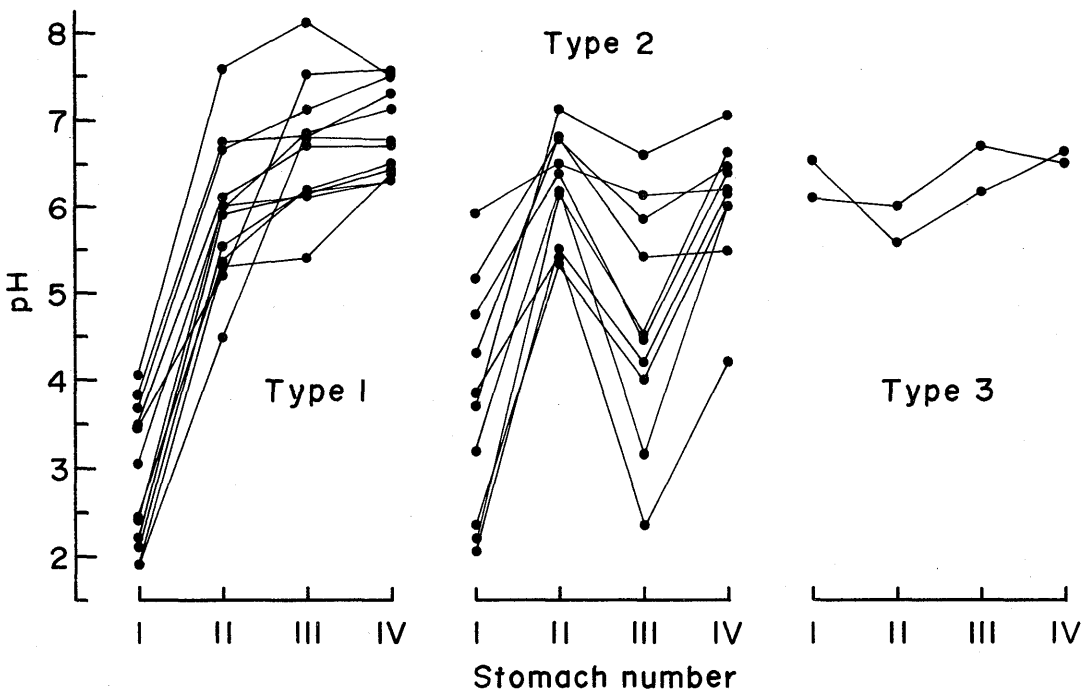


Fig. 1 pH values of stomach fluids of the whales, *Stenella attenuata* and *Stenella caeruleo-alba*. The pH values were classified into three groups.

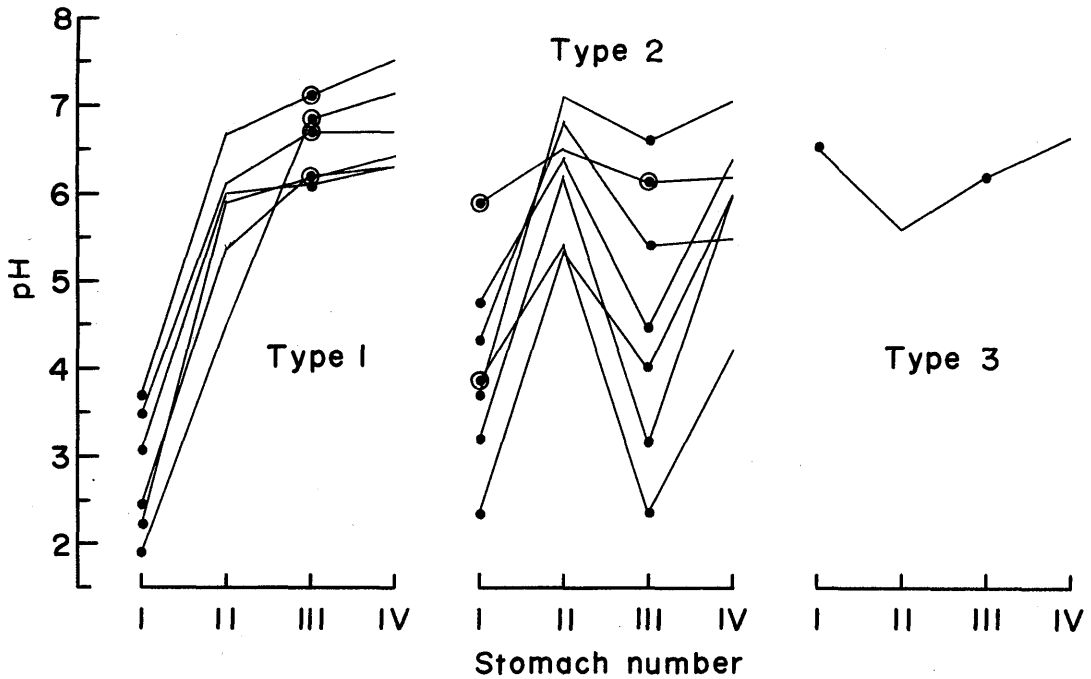


Fig. 2 pH values and bacteria in stomach fluids of the whales, *Stenella attenuata* and *Sitenella caeruleo-alba*.  
● Counting of viable count (bacteria unisolated), ● Bacteria isolated.

Table 2. Viable counts of bacteria isolated from the stomachs of the whales, *Stenella attenuata* and *Stenella caeruleo-alba*.

No. of Samples	No. of Stomachs	Viable counts per ml of stomach fluid
1	III*	$1.84 \times 10^3$
3	III	$3.00 \times 10^3$
11	III	$1.58 \times 10^4$
16	I	$3.60 \times 10^4$
17	III	$2.50 \times 10^4$
19	I	$3.10 \times 10^4$
	III	$4.10 \times 10^4$

\* The letters, I and III designate the first and third stomach respectively.

ノ酸が存在し，その量は通常I胃よりIII胃の方が多く，またIV胃（あるいは腸）では著しく増加した。とくに，胃内に微生物が認められたイルカ（試料19）ではI胃とIII胃の量的差異はほとんど認められず，III胃では他のイルカ試料に比べその量は著しく少なかった。

胃内容液中のアンモニア量と微生物の存否との関係をFig. 4に示す。

胃内容液中のアンモニアもまた微生物の存否に関係なくすべてのイルカで認められ，その量は通常I胃よ

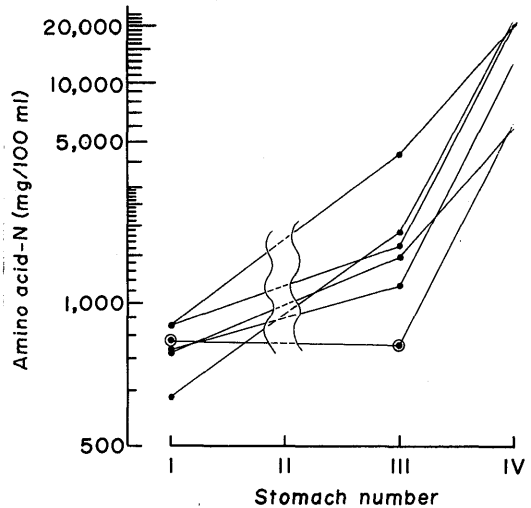


Fig. 3 Amino acid-N and bacteria in stomach fluids of the whale, *Stenella caeruleo-alba*.

● Counting of viable count (bacteria unisolated), ● Bacteria isolated.

りIII胃の方が多く，腸液中では減少するが，なかにはI胃よりIII胃あるいはI胃やIII胃よりもIV胃の方が多い場合もあった。なお，微生物が存在する胃内では脱アミノ作用によるアンモニア量の増加が予想されたが，そうした傾向は認められず，I胃とIII胃の双方に微生物が存在したイルカ（試料19）ではむしろ逆の結果さ

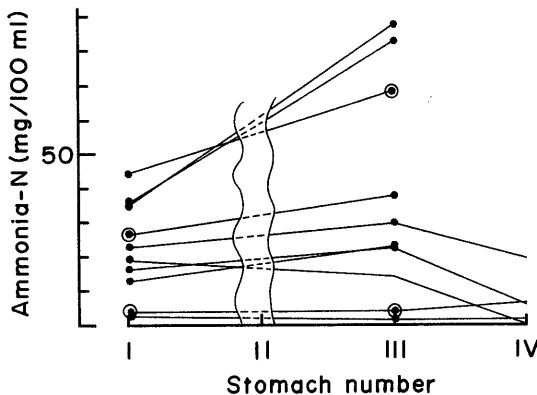


Fig. 4 Ammonia-N and bacteria in stomach fluids of the whale, *Stenella caeruleo-alba*.  
● Counting of viable count (bacteria unisolated), ● Bacteria isolated.

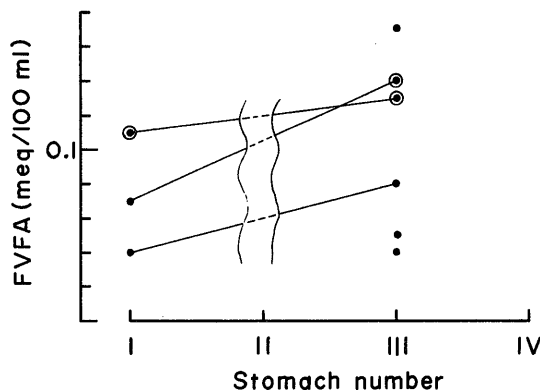


Fig. 5 Free volatile fatty acids (FVFAs) and bacteria in stomach fluids of the whale, *Stenella caeruleo-alba*.  
● Counting of viable count (bacteria unisolated), ● Bacteria isolated.

示した。

胃内容液中の低級酸量と微生物の存否との関係を Fig. 5 に示す。

胃内容液中の低級酸量は I 胃より III 胃の方がわずかに多い傾向を認めたが、微生物の存否にともなう差異は見られなかった。しかしこれらの結果については、分析した試料数が少ないので、さらに検討を必要とする。

### 考 察

反すう動物のルーメン内の pH は消化の進行にともなって変動するが、その変動はほぼ中性近くに限定されている (13, 14)。イルカ胃内 pH を消化の 1 段階と考えると、消化の各過程で pH は 1.90~8.10 まで変動することになり、こうした変化は胃内での微生物の発育を制限すると予想される。実際、微生物は発育可能な pH 域からのみ分離されたが、このことは胃内での一時的な微生物の発育を示唆している。そして発育した微生物がアミノ酸を分解し、アンモニアや低級酸を生成することは考えられる。

ところで、イルカ油脂中に存在する低級脂肪酸が胃内で生成されるであろうこれらの脂肪酸に由来するか否かは、イルカ胃内に微生物は一時的にしか存在せず、また胃内に微生物が存在する場合でもその数は反すう動物 (15~18) に比べ極めて少ない。それゆえたとえ胃内で低級酸が生成するとしても反すう動物 (7, 14) に比べ著しく少ないと思われる。すなわち、イルカ油脂中には反すう動物に比べ著しく多量の低級脂肪酸が存在することを考えると、これら脂肪酸が胃内で微生物

により産生されるであろう脂肪酸に由来するとは考えにくい。そのため、イルカ油脂中の低級脂肪酸は体内で生成されると考えるのが妥当である。

胃内にはアンモニアおよび低級酸が微生物の存否に関係なく見いだされた。また、摂餌直後の I 胃内 pH は極めて低いため微生物も分離されなかったが、これらの I 胃内からも他の試料とほぼ同量のアンモニアや低級酸が検出された。すなわち、胃内容液中に存在したアンモニアや低級酸は餌由来のものが主体を占めると思われた。したがって、I 胃より III 胃の方でこれらの含有量が高かった理由も消化の進行にともなう絶対量の増加と考えられる。しかし他方、胃内から微生物が分離された度合は I 胃より III 胃の方が高かった事実から、微生物の脱アミノ作用も無視できない。これらの点に関しては今後検討する必要がある。

### 要 約

伊豆伊東沖で生け捕りしたアラリイルカとスジイルカの胃内容液中の pH, 生菌数, アミノ酸量, アンモニア量, 低級酸量および体温をしらべ、次の結果を得た。

1. 体温は大部分が 35°C 前後だが 37.5°C とやや高いものもあった。
2. 胃内容液 pH は一連の消化の過程で 1.90~8.10 まで変動した。
3. 胃内容液から  $10^3 \sim 10^4 / \text{ml}$  の細菌が発育可能な pH 域からのみ分離されたが、発育可能な pH 域でも分離されない場合が多くあった。
4. いずれの胃内容液中にも遊離のアミノ酸, アンモニアおよび低級酸が存在したが、これらと微生物と

の関連性は見い出せなかった。

終りに、本論文のご校閲をいただいた東北大学農学部教授金田尚志博士に対し謝意を表す。

#### 文 献

- 1) 森井秀昭・金津良一(1972). 日水誌, **38**, 1035-1039.
- 2) 森井秀昭(1972). 日水誌, **38**, 1177-1183.
- 3) Morii, H. (1973). *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **39**, 333.
- 4) 森井秀昭(1973). 本誌, **35**, 85-90.
- 5) 森井秀昭(1979). 本誌, **47**, 43-48.
- 6) 森井秀昭(1979). 本誌, **47**, 49-54.
- 7) EL-Shazly, K. (1952). *Biochem. J.*, **51**, 640-647.
- 8) EL-Shazly, K. (1952). *Biochem. J.*, **51**, 648-653.
- 9) Lewiss, D. (1955). *Brit. J. Nutrient*, **9**, 215-229.
- 10) 日本分析化学会(1968). 臨床化学分析II. 東京化学同人, 東京, 163-177.
- 11) Solórzano, L. (1969). *Limnol. Oceanog.*, **14**, 799-801.
- 12) Irving, L. (1969). *The Biology of Marine Mammals*. Academic Press, New York・London, 154.
- 13) Cason, J. L., Ruby, E. S. and Stallcup, O. T. (1954). *J. Nutr.*, **52**, 457-465.
- 14) Mcmanus, W. R. (1959). *Nature*, **184**, 1572-1573.
- 15) Bryant, M. P. (1959). *Bact. Rev.*, **23**, 125-153.
- 16) Hungate, R. E., Bryant, M. P. and Mah, R. A. (1964). *Ann. Rev. Microbiol.*, **18**, 131-166.
- 17) Doetsh, R. N. and Robinson, R. Q. (1953). *J. Dairy Sci.*, **36**, 115-143.
- 18) Fungate, R. E. (1947). *J. Bacteriol.*, **53**, 631.