HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	北海道に於ける異常乳に関する研究：（原料乳、市販乳に関する衛生学的調査研究）
Author(s)	橋本, 吉雄; 有馬, 俊六郎; 三河, 勝彦
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 5(1), 17-22
Issue Date	1964-06-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/11731
Type	bulletin (article)
File Information	5(1)_p17-22.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

北海道に於ける異常乳に関する研究

(原料乳，市販乳に関する衛生学的調査研究)

橋本吉雄　有馬俊六郎　三河勝彦
(北大農学部畜産学科畜産製造学教室)

Studies on Abnormal Milk in Hokkaido

(Hygienic Studies on Qualities of Raw and Pasteurized Milk around Sapporo)

By

Y. HASHIMOTO, S. ARIMA, and K. MIKAWA
(Faculty of Agr., Hokkaido Univ., Sapporo, Japan)

緒　言

第二期開発計画，家畜増殖計画により一大飛躍が期待される北海道酪農に於て，生産消費の面の一障害は異常乳(低品質乳)の存在で，その損害は数億円に達する。我々はこの生産起因を追究し，改良，予防を目的に異常乳に関する総合的な研究を企図した。本実験はその一環として札幌周辺の生乳，殺菌乳につき衛生的な調査研究を昭和38年7月～12月迄行った結果である。即ち，衛生面及び風味，品質の上から重要である好熱菌，好温菌(中温菌)，好冷菌の菌数実態を調べて，季節，貯蔵の影響に考察を加え，又最近農家使用の各種薬剤，抗生物質の牛乳への移行が，製造面，衛生面に問題となっているので，之に関する検査をも併せて行なった。

実験材料及び方法

生乳は農家出荷直前の一等乳及び工場受入牛乳缶より，殺菌乳は小売店の冷蔵庫内より検査日と同一日付のものを午前10時に採った。

実験方法：細菌試験はA.P.H.A.の標準法[1]で行った。即ち培養温度は好温菌は35°Cで48時間，好熱菌は55°Cで48時間，好冷菌は5°Cで7日間，各平面培養を行った。尚菌数300個以上のコロニー数の場合は，密集集落平板測定法[1]により測定し，30個未満の場合<30という表現を用いた。

抗生物質検出方法はA.P.H.A.の標準Disc Assay[1]を用いた。即ちDiskに試料を浸し，予め*B. subtilis*胞子懸濁液を混入した培地の上に置き，37°Cで6時間培養して，Disc周辺の菌抑制帯(Inhibitor Zone)を観察する。抑制帯が生じた場合，その直径を，予め作製したペニシリン標準抑制帯と比較して，ペニシリン単位として表わした。尚乳中の抗菌物質としてNatural Antibiotics[2](Lactenin, Nisin, etc.)とAdditive Antibiotics(抗生物質，農薬，医薬，洗剤等)が考えられるが，前者は一般に熱に弱いので[3,4]，試料を加熱処理することにより大凡の区別をつけ，又ペニシリンの確認は，Penicillinaseを浸したDiscを併用することにより試みた。

実験結果

(1) 細菌数試験結果

市販乳の菌数を便宜的に各段階に分け，その例数の分布を見た結果は第1表，第2表，第3表の如くである。尚AB……は各メーカーを表わす。

好熱菌数は(第1表)いずれも少なく，80%以上が200/cc.以下であった。

第2表に示した好温菌はGの場合を除き，いずれも50,000以下であった。尚Gは特殊事情で本実験期間中に製造中止となった処であるが，Fの1例と共に規格外のものが市販されていたことは注目されなければならない。

第3表の好冷菌は好温菌の場合と同様，F, Gの菌数場合が非常に多い。市販乳中の好冷菌は殺菌後の汚染による原因が多いと云われる[5]が，冷蔵保存が延長される昨今，好冷菌数も充分注意されなければならない。

以上の結果を夏期(7, 8, 9月)と冷期(10, 11, 12月)に分けて，季節の変化を見たのが第4表である。尚表中T.は好熱菌，S.は好温菌，P.は好冷菌を表わす。

第 1 表 好熱菌数の分布（市販乳）

菌数/cc	A	B	C	D	E	F	G	計	%
<30	10	11	12	5	5	2	3	48	55
30～199	2	2	1	5	6	4	3	23	26
200～999	1	0	0	3	2	7	3	16	18
>1,000	0	0	0	0	0	0	1	1	1
試料数	13	13	13	13	13	13	10	88	
最高	360	60	40	310	330	700	3,200		

第 2 表 好温菌数の分布

菌数/cc	A	B	C	D	E	F	G	計	%
<30	9	4	5	1	1	1	0	21	24
30～ 1,000	2	9	7	5	9	8	0	40	46
1,000～50,000	2	0	1	7	3	3	5	21	24
>50,000	0	0	0	0	0	1	5	6	6
試料数	13	13	13	13	13	13	10	88	
最高 (×1000)	25	4	17	69	19	23,000	31,000		

第 3 表 好冷菌数の分布

菌数/cc	A	B	C	D	E	F	G	計	%
<30	10	8	7	5	12	4	0	46	52
30～ 1,000	2	4	5	3	1	6	0	21	24
1,000～50,000	1	1	1	5	0	1	4	13	15
>50,000	0	0	0	0	0	2	6	8	9
試料数	13	13	13	13	13	13	10	88	
最高	5,200	2,600	1,300	4,300	31	2.500.000	2,300.000		

第 4 表 季節の変化

月 / 菌数/cc	7	8	9	計 (%)	10	11	12	計 (%)	菌区分
<30	10	12	9	(50)	4	9	4	(68)	T
30～199	2	11	3	(25)	2	3	2	(28)	
200～999	2	5	8	(24)	1	0	0	(4)	
>1,000	0	0	1	(1)	0	0	0	(0)	

菌数/cc ＼ 月	7	8	9	計 (%)	10	11	12	計 (%)	菌区分
<30	4	1	3	(15)	3	6	4	(54)	S
30～ 1,000	6	16	8	(54)	2	6	2	(41)	
1,001～50,000	2	7	7	(29)	1	0	0	(5)	
>50,000	0	1	0	(2)	0	0	0	(0)	
<30	8	7	9	(44)	5	11	6	(93)	P
30～ 1,000	1	12	6	(35)	1	1	0	(7)	
1,001～50,000	2	5	3	(18)	0	0	0	(0)	
>50,000	1	1	0	(3)	0	0	0	(0)	

市販乳の場合であるが，いずれも夏期の場合が多くなり，特に好温菌，好冷菌が多かった。

次に原料乳(生乳)の場合における各菌数の8～11月の分布は第5表の如くである。

第5表 生乳の各菌数分布

菌数/cc ＼ 月	8	9	10	11	計	%	菌区分
<30	7	6	6	5	24	80	T
>30	0	2	2	2	6	20	
試料数	7	8	8	7	30		
< 250,000	2	0	2	3	7	23	S
<1,000,000	3	5	4	3	15	50	
>1,000,000	2	3	2	1	8	27	
試料数	7	8	8	7	30		
< 250,000	6	6	2	3	17	56	P
<1,000,000	1	1	4	2	8	27	
>1,000,000	0	1	2	2	5	17	
試料数	7	8	8	7	30		

本実験に供試した生乳は農家庭先で採取したものであるが，一般に好熱菌は少なかった。

好温菌は1,000,000以上が27%，好冷菌は17%あった。8，9月と10，11月を比較すると好熱菌は大差なく，好温菌は前期に，好冷菌は後期に多かった。次に最近好冷菌が問題になっているので，好冷菌と好温菌の関係を見た。

先ず市販乳と生乳の場合，本実験結果より両者の相関係数を求め，次に基準数以上の悪い例数(市販乳は 1 cc. 50,000以上， 生乳は平面培養法が直検法の場合の約1/4倍と見て1 cc. 1,000,000以上) を求め，好冷菌，好温菌共基準以上の場合，及びどちらかが基準以上の場合の例数を見たのが第6表である。

第6表 好温菌と好冷菌の関係

	市販乳	生乳
相関係数 r	0.80 **	0.40 *
基準以上の例数 (計)	8	12
SP 共に	7	4
S のみ	0	6
P のみ	1	2
基準	50,000	1,000,000

** 1%水準　* 5%水準

第7表 貯蔵温度の影響

試料	菌区分	冷蔵貯蔵	水槽貯蔵	月/日
No. 1	T	<30	<30	8/15
	S	180,000	510,000	
	P	1,600	8,000	
No. 2	T	<30	<30	9/15
	S	260,000	2,600,000	
	P	9,000	1,400,000	
No. 3	T	<30	<30	10/15
	S	78,000	480,000	
	P	210,000	2,700,000	
No. 4	T	<30	<30	11/15
	S	18,000	400,000	
	P	70,000	4,800,000	

市販乳(殺菌乳)に於ける両者の相関は非常に高く，此の点殺菌乳の好冷菌は公衆衛生上注目すべきと思われ

る。生乳の好冷菌は殺菌により殆んど死滅する[6]から問題は少ないとして，殺菌乳で好冷菌数が好温菌数を上廻る場合のあることは注意すべきである。

次に各菌数の貯蔵温度の影響を見た。即ち農家で生乳を冷蔵貯蔵 (5°C) と水槽中に一夜貯蔵した結果は第7表の如くである。

貯蔵温度が高い場合，当然好温菌は多くなるが，好冷菌も之に比例して多くなっている。この事を更に詳細に知らんが為に，試験管内で貯蔵試験を行なった。即ち生乳を5°C と 15°C で一夜保存した後，75°C，15分間殺菌を行って後菌数を調べ，後2週間にわたって同温度保存中の菌数を見たのが第8表である。

第8表　貯蔵温度の影響

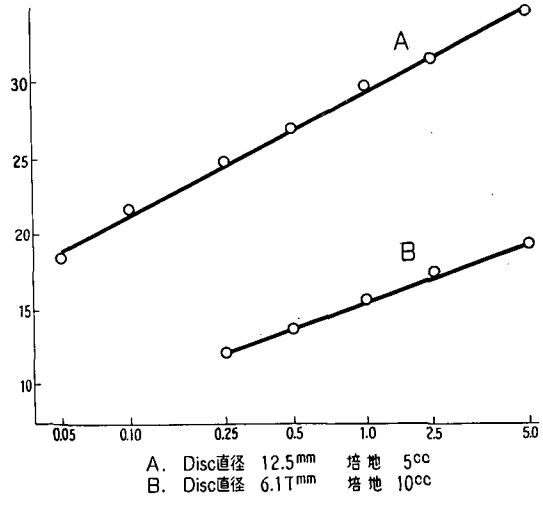
貯蔵温度 5°C				日数	貯蔵温度 15°C			
酸度 (%)	T	S	P		P	S	T	酸度 (%)
0.13	<30	2,100,000	1,900	0				
0.14	<30	4,600,000	38,000	1	1,200,000	44,000,000	<30	0.17
0.14	<30	890	<30	*	<30	720	<30	0.15
0.14	95	470	160	1	50	2,300	<30	0.16
0.14	130	470	100	2	300	22,000	54	0.16
0.14	73	2,200	300	3	3,000	17,000,000	57	0.19
0.14	120	1,500	300	4	300,000	20,000,000	sp.**	0.23
0.14	57	2,000	300	5	500,000	45,000,000	sp.	0.29
0.14	66	1,600	320	7	off flavour.		Coagulation.	
0.14	78	1,600	260	9				
0.14	72	7,300	360	11	* 75°C 15分殺菌			
0.14	160	5,000	330	13	** 拡散集落			

酸度 0.13%, T. <30, S. 2,100,000, P. 1,900 の生乳から開始したが，一夜 5°C，15°C で置いた結果，大体第7表の結果の如く，後者の場合，好温菌，好冷菌とも増加している。次に各々を殺菌した結果，いずれも殺菌の目的を達し激減している。之等を 5°C，15°C で保存してゆくと，5°C の場合は約2週間置いても，細菌数的には悪い変化は見られなかったが，15°C で保存した場合，3日で基準以上の菌数になり，好冷菌も好温菌に比例して，3日目より増加している。そして一週間以内に明らかな異常臭及び凝固が見られた。

(2) 抗生物質検出実験結果

先ずペニシリン標準曲線を作製した。即ちペニシリン G カリウム塩 10万単位を 1% 燐酸緩衝液に溶解し，同液で稀釈して各濃度溶液を作製し，之等の液に滅菌 Disc を浸して後 *B. subtilis* の培地上に置き，37°C で6時間倒置して後，菌抑制帯の直径を測り標準曲線とした (第1図)。尚 Disc は東洋濾紙 No. 26 を使用し，直径 6.17 mm と 12.50 mm のものを作成した。

なお *B. subtilis* の菌数は1平板当り約 1.1×10^6 である。また，図のタテ軸には菌抑制帯の直径 (mm) を，ヨコ軸にはペニシリンの濃度 (unit/cc…対数目盛) をとった。



第1図　ペニシリン標準曲線

この試験では標準法に多少改良を加えたが，その結果 0.05 単位迄確認することが出来た。

この結果に基づき，生乳，殺菌乳の抗生物質の検出実態は次の如くであった。

第9表 生乳中に於ける抗生物質
(0.25 ペニシリン単位以上)

試料数	抗生物質陽性例	
	無処理	加熱処理
420	2	0
5*	1	0

* 凍結乾燥試料

第10表 市販乳に於ける抗生物質

ペニシリン単位	試料数	陽性例
0.25 以上	77	0
0.05 以上	15	0

第9表に於て，工場受の各缶から採取した生乳420例中より，0.25 ペニシリン単位以上の陽性例は2例で，之を 80～85°C で5分加熱した場合は，陰性であった。尚生乳を5cc. 採り之を凍結乾燥し，微量の水で解凍した液を同様の方法で行なった処5例中1例の陽性を示した。今後は凍結乾燥法を利用して濃度を高くする方法を試みたい。

第10表で市販乳（殺菌乳）に於ては本実験に於ける抗生物質陽性例は約90例中皆無であったが，今後実験数を増加して抗生物質移行の実態を広範囲に調べ，常に警戒する必要がある。

考　　察

本細菌検査は主として菌数より見たが，特に最近，好冷菌が問題になっているので，その菌数に焦点をあてつつ，他の菌数も見た。従って市乳試料は，販売店で冷蔵庫内においてあるものを採った。先ず好熱菌の場合だが殺菌乳に於ては一般に少なかった。Foster 等は殺菌乳中に好熱菌が多数存在する原因は，生乳中に好熱菌が多いか，あるいは殺菌温度付近での長時間保持であると述べているが[5]，一般細菌と好冷菌が少なくて然も好熱菌の多い試料はなく，いずれもGの場合の如く相対的に数が多いので，好熱菌単独に多い理由[6]を考察する必要がないと思われる。次に殺菌乳の一般細菌数であるが，特殊事情とは云え，F. G. に於て規格外の市乳が売り出されていた事は，厳重に警告されて然るべきであろう。もし，配達後直ちに冷蔵庫に入れられていたものとすれば，原因は殺菌不充分か，殺菌後の汚染であるから尚更である。猛省を促したい。好冷菌数の場合は，好温菌と同じく，F. G. が非常に多かった。好冷菌の源は土壌や水と洗条不充分な装置や器具が汚染源と考えられるが[5]，殺菌によって好冷菌の大部分が死滅する[6]から，この場合も殺菌不充分か，殺菌後の汚染[5]が原因と思われる。然し本実験の方法では培養中に好温菌より移行するものも考えられるのですべて好冷菌とは云えない[7]。今後は菌種の検討をする必要があろう。

以上の結果を7，8，9月と10，11，12月に分けて見た場合（第4表）前者に多かったのは，上記の原因が考えられるならば当然である。

生乳の場合であるが，農家庭先にかかわらず規定（直検法で400万/cc.）外のものが27%もあったことは，冷却の不充分と思われ，注意を促したい。

第6表で好温菌と好冷菌の市乳における相関は極めて高く，この点上述の如く，好冷菌数の多い市乳は衛生上注意を要する。好温菌数と好冷菌数とが比例する事は，第7表，第8表で見られるが，特に第8表に於て，既に実験結果で述べた如く，殺菌により殆んど0に近くなった好冷菌が，貯蔵温度の適，不適によって，著しく差を生じ，後者の場合，好温菌と比例して激増し，短時日の中に，各々基準以上の菌数となり，変質を見たのは，衛生学上留意すべき点であろう。

次に抗生物質の検出実験であるが，この種の実験は，不断の監視を要するもので，従って本実験の例数ですべて陰性であっても安心できない。本検出方法は WILLIAMS[8] によれば，0.01～0.03 ペニシリン単位迄測定可能というが，この点本実験では，0.05 単位迄で，今後更に改良を加えたい。本結果ではすべての試料に陰性であった。尚第9表の生乳の中の2例が 0.25 単位で陽性となり，加熱によって陰性となったが，この抗生物質は熱に弱いものである。ペニシリン等の化学的抗生物質は一般に熱に強く，従って市乳中に移行する事が問題となるが，上記の耐熱性の弱い抗生物質は，Natural Germicidal Properties[2] に類するものと推察されるが，この場合初乳の混入も考えられるので，耐熱性のあるものよりは無難であろう。Germicidal Properties はすべての新鮮生乳に多少とも存在するので，生乳を加熱しないで濃縮すれば，本実験の陽性例が増加するのは当然である。この点，凍結濃縮は，市乳のより正確な検出にも効果のある方法と考えられ，将来の研究に期待したい。

総　　括

農家出荷直前の混合一等乳及び，工場受入各缶から生乳を採り，殺菌乳は小売店の冷蔵庫より，検査日と同一日付のものを購入して，衛生的な追究を行ない次の様な

結果を得た。

(1) 市販乳(88例)に於ては，好熱菌は少なく，検数の80%が200/cc.以下，好温菌は95%が50,000/cc.以下で1,000以下は70%，好冷菌も80%が1000以下であった。季節ではいずれの菌数も夏季に多かった。

(2) 生乳に於ては好熱菌は少なく100/cc.以下で，好温菌は100万以上が27%，好冷菌では100万以上が17%あった。季節では好熱菌は大差なく，好温菌は夏期，好冷菌は冬期に多かった。

(3) 好温菌数と好冷菌数とはよく比例し，市販乳の場合0.8の相関を示した。又貯蔵温度の高い場合，この傾向は著しかった。

(4) 好冷菌は殺菌により殆んど死滅した。然し市販乳中に若干好冷菌の多いものがあり，汚染の為と考察した。

(5) 本実験では抗生物質移行は市販乳中には認められなかった(0.05ペニシリン単位以上)。生乳に若干認められたがすべて耐熱性はなかった。

終りに試料提供に援助を戴いた雪印札幌工場，北海道酪農検査所各位に謝意を表す。

文　献

1) American Public Health Association: Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 11 th ed. (1960)
2) JONES, F. S. and SIMMS, H. S.: Germicidal Action in Raw Milk. J. Exptl. Med. 50, 279 (1928)
3) 有馬俊六郎：生乳の *Staphylococcus aureus* に対する発育抑制作用，日本畜産学会報，28. 6 (1958)
4) 佐々木林治郎・粟飯原景昭：生乳の Germicidal Action について，日本農芸化学会報，29, 865 (1955)
5) FOSTER, E. M. et al.: Dairy Microbiology (1957)
6) HAMMER, B. W.: Dairy Bacteriology 4 th ed. (1957)
7) WITTER, L. D.: Psychrophilic Bacteria. J. Dairy Sci., 983, 44 (1961)
8) WILLIAMS, M. J.: Comparison of Sensitivity of Three Disc Assay Procedures. Univ. of Mass. (1960)

Summary

Some hygienic studies on qualities of raw and pasteurized milk around Sapporo from July to Dec. in 1963 were undertaken. The following results were obtained.

1. Thermophilic bacterial counts were very low and both mesophilic and psychrophilic bacterial counts were almost lower than 50,000 per ml. of pasteurized milk samples.

2. A few samples had higher counts of meso. and psychro. bacts. than 50,000.

3. All samples of raw milk had lower counts of thermo. bacts. than 100 per ml., 27% of samples had higher counts of meso. bacts. than 1,000,000 and 17% of samples had higher counts of psychro. bacts. than 1,000,000.

4. Chemical antibiotics of higher levels than 0.05 unit penicillin per ml. of milk were not detected in all samples.