



Title	Subclinical Mastitis 乳の理化学的性状について
Author(s)	有馬, 俊六郎; ARIMA, Shunrokuro
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 4(1), 34-59
Issue Date	1962-07-10
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/11717
Type	departmental bulletin paper
File Information	4(1)_p34-59.pdf



Subclinical Mastitis 乳の理化学的性状について

有馬 俊六郎

(北海道大学農学部 畜産学科)

Physiol-Chemical Studies on Subclinical Mastitis Milk

By

Shunrokuro ARIMA

(Department of Dairy and Animal Science, Faculty of
Agriculture, Hokkaido University)

序 言

わが国の酪農は戦後国家再建の政策と相まって急速に振興し、今や牛乳及び乳製品は国民の栄養食品として必須のものとなり、今後益々その消費が一般に滲透してゆくものと思われる。従って原料乳の乳質改善運動が国家はもとより生産者製造会社の各方面から進められ、戦前に比べその成果が少なからず挙げられたことは、国民全般の乳及び乳製品に関する知識の普及と共に、大いに慶ぶべきことと云わなければならない。然しこの様な現状において今尚種々の疑問を残している問題に異常乳があり、その一つとして乳房炎乳(Mastitis Milk)が存することは周知の如くであって、これが乳量減少や乳質低下を来たし生産者は勿論製造業者にとってその損害は計り知れないものがある。

さてこの乳房炎については外国の研究歴は古い。然しいろいろな原因が考えられ、又その症状がまちまちである為に明確な診断判定がなく、最近では起炎菌^{100,107)}による感染が第一義で、その他はすべて第二義と云う説が強いが、この起炎菌が正常乳にも見出されていることより単に本菌によってのみ起るものでなく、何らかの要因が加った場合発症するように思われる。又牛乳及び乳房中に起炎菌が認められないにもかかわらず、乳房の組織に病変の認められる非特異性乳房炎もある。筆者のように乳及び乳製品を専攻し乳を利用する者にとって今直ちに重要なことは、乳房炎型の異常乳を出し、潜在性乳房炎乳、原因不明の乳房炎乳、慢性型乳房炎乳等とよばれているいわゆる Subclinical Mastitis^{70,110,140)} 乳の問題であり、そして現在一般に行なわれている原料乳受入検査では乳房炎乳の区別はできず、症状の悪い乳でも一等乳として受入られる恐があると云うことである。処でこの

種の検査は少なく、平戸⁴⁶⁾によれば北海道において乳房炎乳約 13.7%、乳房炎型異常乳は全乳量の約 30% にも達すると報告し、農林省報告によれば調査乳牛(昭和 30 年)の約 19% が乳房炎牛であったという報告があるにすぎない。

従って筆者は後述の方法で Subclinical Mastitis 乳を採取し、この理化学的性状を可及的に広範囲に追求し、乳房炎の基礎的研究に益せんとするだけでなく、その早期発見診断防止に資することを目的として本研究を企図したものである。

本論文の発表に当り御指導御校閲を賜った三田村健太郎博士、中村幸彦博士、橋本吉雄博士、前野正久博士、長沢太郎博士、平戸勝七博士、佐々木西二博士並びに直接御協力を戴いた斎藤善一、手島良治、三河勝彦、中川雅郎の諸氏及び獣医学部細菌学教室、同生化学教室の方々に深甚の感謝の意を表する次第である。

I. Subclinical Mastitis 乳の 一般成分について

(1) 試料及び検査法

最近 PLASTRIDGE¹⁰³⁾ は乳房炎は起炎菌による感染が原因であり、病原に対する露出の程度、遺伝的抵抗性、搾乳の方法、乳期、飼養管理等がその誘因になると報告し、前野⁷⁷⁾ はわが国においては特に飼養管理の不良が以上の中で多いことを指摘している。現在起炎菌として認められている菌^{49,96)} は Streptococcus が最も一般的でそれ以外に Staphylococcus, Micrococcus, Coliform, Corynebacterium Pyogenes, Pseudomonas aeruginosa, Clostridium welchii Actinomyces 等が報告されている。PLASTRIDGE¹⁰³⁾ は Streptococcus, Staphylococcus, Micrococcus が一般的な起炎菌でそれ以外は急性な症状

を呈し、全体の1%にも満たないと述べ、わが国においても大体同じ傾向のようである^{46,90}。筆者は枯核、ブルセラ、その他の病原菌の感染による一分科として起るものや、血乳、膿乳等を分泌する急性、悪性の臨床的乳房炎(Clinical Mastitis)を除き、前述のSubclinical Mastitis乳を研究対照とした。すなわち PLASTRIDGE¹⁰³の述べるSubclinical Mastitis, Mildclinical Mastitis, Severeclinical Mastitis の分類を参照し、まず初乳、末期乳を除き臨床的に外部症状が明確でなく、現在乳房炎乳の検査として重視されている細胞数検査⁸⁸、White side test^{82,83,102}、B.T.B. test, pH, test, 及び Strip-cup test で陽性となり、然も乳房炎菌として一般的な Streptococcus (agalactiae, dysagalactiae, uberis 等)⁹⁰、Micrococcus (約20種)、Staphylococcus (溶血性) について北大獣医学部細菌学教室にて検出し陽性⁴⁶となった乳牛を対照とした(血液平面培養0.005 cc 中3ヶ以上)。

尚調査牛乳は札幌周辺のホルスタイン、ブラウンスイス、ガーンジーの各分房乳で、乳房炎検出の場合は Fore milk⁸⁸を用い、乳成分の理化学的検査には搾り切ったものを混合し可及的無菌的に採取した。

(2) 一般成分検査法

各試料は採取後2~3時間以内に試験に供した。酸度は乳酸酸度滴定法、脂肪率はバブコック法、全窒素はケールダール法、乳糖は LANE-EYNON 法⁸⁹、塩素は DAVIES 法²⁵、石灰は硫酸セリウム法⁷⁴、磷は URBACH 法¹⁰³、可溶性石灰及び磷は chamberland L₃ の濾液⁷⁴で測定、pH 4.6 カゼイン以外の窒素は醋酸 pH 4.6 ホエーを用い電気伝導度はホイートストーン橋を用い15°Cで測定し

た。

(3) 実験結果

A. 牛種別相加平均

Subclinical Mastitis 乳の牛種別相加平均¹²⁹の結果は第1表の如くで、例数はホルスタイン24、ブラウンスイス12、ガーンジー6、である。

第1表の結果を正常乳成分^{48,77,92,111}とされている酸度0.18%, pH 6.6, 比重1.028~1.034, 脂肪率3.0~4.0% (ホルスタイン), 乳糖4~5%, 塩素130 mg %, 全磷80 mg %, 可溶性磷20~30 mg %, 全窒素600 mg %, pH 4.6 沈澱カゼイン以外の窒素80~90 mg %, 全石灰120 mg %, 可溶性石灰40 mg %, 電導度 4.8×10^{-3} , 細胞数500,000/cc に比較すると塩素, カゼイン以外の窒素, 電導度が増加, 乳糖, 脂肪, 比重, 全磷, 酸度が減少し, 中でも塩素, 乳糖, カゼイン以外の窒素, 電導度においてその差が著しかった。しかし牛種別には明確な差は認められなかった。

B. 乳糖及び細胞数と乳成分の相関係数

乳糖は古くからその含量の消長が疾病との関係に利用³⁶されていることと、細胞数検査が乳房炎乳検査によく用いられていることから、乳糖及び細胞数と各成分の相関係数²を求めた。乳糖又は細胞数を X, 他成分を Y としたもので、牛種別に係数を求め、それを平均したのが第2表である。

乳糖, 塩素, 電導度, カゼイン以外の窒素等は高い係数値を示し、検査として重要なことを意味している。尚磷が石灰より高い信頼度を示したが、牛体の生理栄養の点から興味あることと思われ、今後の研究に期待したい。

第1表 牛種別相加平均

牛種	相加平均	A.N. mg %	全窒素 mg %	全磷 mg %	可溶性 磷 mg %	全石灰 mg %	可溶性 石灰 mg %	電導度 $\times 10^{-3}$	塩素 mg %	乳糖 %	比重 15°C	脂肪 %	B.T.B. test	酸度 %	病原 菌数 1000/ cc	細胞数 1000/ cc
ホル スタ イン	Max.	231.8	696.5	117.7	50.2	217.5	90.0	6.9	286.6	4.3	1.034	4.0	7.2	0.189	+	25,800
	Min.	79.0	310.0	35.6	14.2	80.5	16.4	4.2	128.8	2.8	1.024	1.3	6.4	0.058	160	68
	Ave.	117.5	594.9	74.5	30.4	121.4	36.2	5.2	184.3	3.7	1.027	2.9	6.7	0.123	—	3,110
ブ ラ ウ ン ス イ ス	Max.	186.2	719.6	103.6	66.0	144.0	108.5	6.5	265.4	4.5	1.032	4.8	6.9	0.137	100	5,500
	Min.	99.7	471.1	70.1	16.3	99.6	20.0	3.3	106.8	3.1	1.029	3.1	6.4	0.100	28	120
	Ave.	138.6	526.7	94.6	37.1	117.6	55.9	5.0	168.3	3.8	1.030	3.7	6.6	0.121	64	1,668
ガ ー ン ジ ー	Max.	105.0	605.8	117.8	70.8	158.2	119.0	5.0	181.2	4.4	1.030	5.9	7.1	0.162	150	7,800
	Min.	84.3	489.5	80.7	24.5	102.4	42.2	4.0	97.7	3.7	1.026	1.5	6.6	0.068	40	180
	Ave.	96.4	553.9	94.5	39.5	132.9	81.3	4.8	122.1	4.1	1.028	3.9	6.8	0.115	98	2,135

註 A.N. は pH 4.6 沈澱カゼイン以外の窒素

第2表 乳糖および細胞数と乳成分の相関係数

X	Y	全窒素	カゼイン 以外の 窒素	酸度	B.T.B.	比重	脂肪	塩素	電導度	全石灰	可溶性 石灰	全燐	可溶性 燐	乳糖
乳糖		+0.20	-0.72**	+0.29	-0.53**	+0.54**	+0.49**	-0.82**	-0.71**	-0.40*	+0.15	+0.50**	+0.44**	—
細胞数		-0.10	+0.66**	-0.28	+0.15	-0.40*	-0.47*	+0.60**	+0.59**	+0.21	-0.18	-0.10	-0.36**	-0.64**

註 + : X成分の増減と平行する場合

- : X成分の増減と逆行する場合

* : 5%有意水準を示す

** : 1%有意水準を示す

第3表 ホルスタイン種における菌種別平均値

菌種	検体 数	平均	全窒素 mg %	カゼイン 以外の 窒素 mg %	全燐 mg %	可溶性 燐 mg %	全石灰 mg %	可溶性 石灰 mg %	電導度 ×10 ⁻³	塩素 mg %	乳糖 mg %	脂肪 %	比重 15°C	酸度 %	細胞数 1000/ cc	B.T.B. test
Strepto- coccus	63	Max.	679.0	231.8	89.4	43.4	217.5	43.3	6.9	286.6	3.8	3.4	1.034	0.120	25,800	7.1
		Min.	386.0	109.2	35.6	14.2	80.0	16.4	4.2	155.0	2.8	1.3	1.024	0.070	139	6.4
		Ave.	506.6	154.9	65.4	27.3	134.6	26.9	5.6	202.7	3.3	2.2	1.028	0.085	906	6.7
Micro- coccus	12	Max.	577.5	145.3	117.6	50.2	138.9	39.5	6.5	243.1	4.0	3.9	1.032	0.181	1,632	6.9
		Min.	469.7	79.0	70.0	24.4	87.2	20.4	4.6	128.8	3.1	2.5	1.027	0.080	45	6.4
		Ave.	509.7	105.1	89.8	40.4	113.8	28.6	5.3	166.3	3.7	3.2	1.028	0.145	1,035	6.6
Staphylo- coccus	10	Max.	546.0	96.0	71.1	30.6	130.8	49.9	5.9	243.1	4.0	4.0	1.031	0.163	990	6.8
		Min.	420.0	81.0	60.9	17.1	82.3	39.8	5.5	131.0	3.4	3.1	1.028	0.162	410	6.4
		Ave.	483.0	88.5	66.0	23.8	106.5	44.6	5.7	170.5	3.7	3.5	1.029	0.162	700	6.6
No bact.	9	Max.	696.5	119.6	107.9	46.7	138.3	90.0	5.9	191.5	4.3	3.6	1.030	0.135	1,280	6.8
		Min.	310.0	82.0	66.4	20.5	89.0	34.0	4.5	134.8	3.4	2.7	1.027	0.102	69	6.2
		Ave.	530.7	93.8	88.5	28.6	118.0	51.9	5.3	164.1	3.8	3.1	1.029	0.125	290	6.5

C. 菌種別の平均値

ホルスタイン種の場合について病原菌種別, すなわち Streptococcus 属, Micrococcus 属, Staphylococcus 属の菌が検出された場合を区別し, 又調査時に病原菌の認められなかった Subclinical Mastitis 乳をも併せ見た結果が第3表である。

第1表と同様に正常値と比べた時, へだたりが多いの

第4表 菌種別陽性件数比

	S ₄ %	S ₃ %	S ₂ %	S ₁ %	S ₀ %
Strept.	42.8	35.7	21.5		
Micro.	25.0	41.7	33.3		
Staphylo.	40.0	60.0			
no bact.	9.0	9.1	36.3	18.3	27.3

は Streptococcus の場合であった。本実験の場合, 検査で一つでも陽性になったものはすべて実験の対照とされたが, 今乳房炎検査で重要な塩素, B.T.B. test, 細胞数及び細菌検査の4検査で陽性になった件数を, 菌種別の実験例数の百分率で示すと第4表の如くである。尚 S₄ は4検査すべてに陽性の場合, S₃ は4検査の中3検査に陽性の場合。

以下 S₂, S₁, S₀ も同様に意味する。

第4表の結果では no bact. 以外は特に差は認められなかった。

D. 年間細胞数試験結果

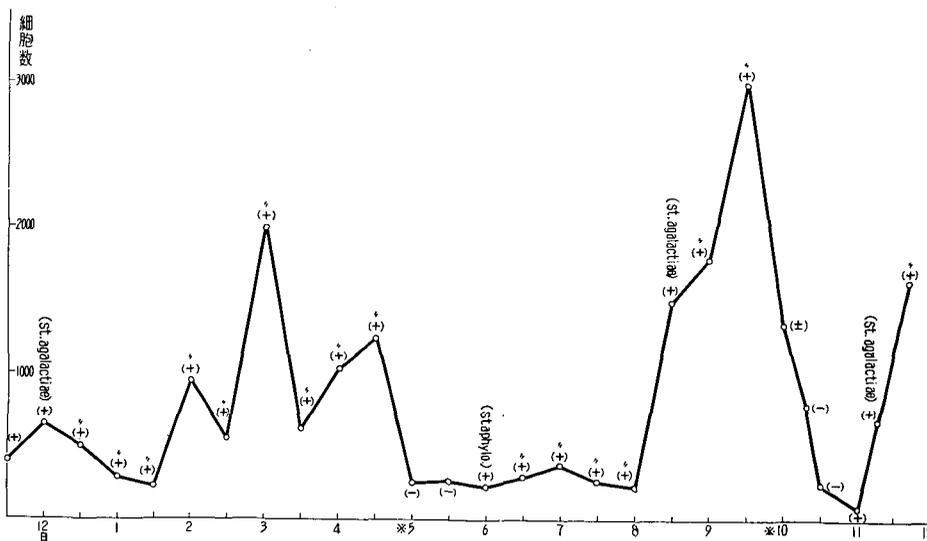
一般に牛乳中の細胞数は変動が激しいと云われているが, 筆者は Subclinical Mastitis 乳を分泌する牛を選出し, 毎月2~3回, 年間を通じて細胞数の消長を調べた。結果は第5表の如くで, それを図示したのが第1図であ

る。尚图中 (+) 及び (-) は起炎菌検出の有無を示し、
 (*) はペニシリン 100,000~200,000 単位を 2~3 日連続
 注入した時を表わしている。

以上の結果によれば Streptococcus が検出されると細
 胞数の変動が激しくなり、又 Staphylococcus が検出さ
 れていても、Streptococcus が現われると急激に細胞数

第 5 表 年 間 細 胞 数

月 日	細胞数 (1000)	病原菌種	月 日	細胞数 (1000)	病原菌種
12. 5	400	St. agalactiae	7. 5	300	St. agalactiae
20	550	"	20	400	Staphylo.
1. 5	500	"	8. 5	280	"
20	300	"	20	250	"
2. 5	250	"	9. 5	1,500	St. agalactiae
20	980	"	20	1,800	"
3. 5	550	"	10. 5	3,000	"
20	2,000	"	20	1,350	(±)*
4. 5	620	"	11. 1	800	(-)
20	1,050	"	5	250	"
5. 5	1,260	"	20	100	"
20	250	(-)*	12. 1	700	St. agalactiae
6. 5	280	"	15	1,650	"
20	250	Staphylo.			



第 1 図 年 間 細 胞 数

第 6 表 各 分 房 別 乳 成 分

分 房	全窒素 mg %	カゼイン 以外窒素 mg %	全磷 mg %	脂 肪 %	全石灰 mg %	乳 糖 %	塩 素 mg %	電導度 × 10 ⁻³	比 重 15°C	B.T.B. test	細胞数 1000	病 原 菌 数 1000	菌 種
右 前	386.0	160.0	76.2	2.5	80.0	2.80	230.1	5.2	1.024	7.0	6,200	16	Strept.
右 後	—	145.3	—	—	—	3.39	243.1	—	1.032	6.8	—	110	Micro.
左 前後*	310.0	96.3	89.4	3.7	89.0	4.09	173.1	4.5	1.092	6.4	69	0	(-)

* 左前後分房の平均

が増加している。ペニシリン処置によって Streptococcus agalactiae は1週間後に検出されなくなり、細胞数も激減したがその後再び検出され免疫性のないことを示した。

E. 各分房別の乳成分

各分房間に関連性があるか否かについて Subclinical Mastitis 牛の各分房乳の成分を調べたがその結果は第6表の如くである。

同一乳房であってもその位置を異にする各分房よりの分泌乳は、各々菌種を異にし、又成分上の異常も区々であった。

(4) 要 約

1. Subclinical Mastitis 乳の乳成分は正常値に比し、塩素、カゼイン以外の窒素、電気伝導度が増加し乳糖、脂肪、比重、全燐、酸度等が減少し、その中塩素、乳糖、カゼイン以外の窒素、電気伝導度において Subclinical Mastitis と相関が強かった。

2. 一般に Streptococcus の分離された乳汁の成分特に細胞数の変動が激しかった。

3. ペニシリン注入により Streptococcus agalactiae は1週間で陰性となり、細胞数も激減するが後再び現われて免疫性はなかった。

II. 治療(ペニシリン投薬)による乳成分の変化について

乳房炎菌の抗生物質による治療の報告は多いが^{15,29,49,101,102,127,134} 乳成分を詳細に検討した例⁹¹⁾は数少ない。筆者は治療により急激に変化する成分を調べ、その成分

こそ診断その他の研究の対照にすべきものと期待して本実験を行なった。尚比較のため Subclinical Mastitis 乳を分泌する牛の無治療のまま約3ヵ月放置したものを併せて分析した。

(1) 実験方法

試料採取方法及び成分分析方法は第1章と同じである。治療はペニシリン 200,000 単位を 50 cc 生理食塩水にとかし、2~3日連続乳頭孔より注入した。結果は第7、

第7表 治療前後分房の乳成分

牛 番 号	No. 6, 1		No. 6, 2	
	時 期	発病時	治療後	発病時
搾 乳 月 日	7. 1	7. 30	7. 1	7. 30
全 窒 素 mg %	482.3	696.5	514.8	609.0
カゼイン以外窒素 mg %	124.6	82.0	115.9	93.0
全 燐 mg %	76.2	107.9	87.4	100.0
可 溶 性 燐 mg %	38.1	20.6	17.7	35.0
全 石 灰 mg %	111.0	138.3	92.5	138.2
可 溶 性 石 灰 mg %	41.4	45.0	16.4	39.0
電 導 度 × 10 ⁻³	5.4	5.6	5.2	5.3
塩 素 mg %	166.1	168.5	166.2	152.0
乳 糖 %	2.9	3.6	3.8	3.6
比 重 15°C	1.031	1.029	1.031	1.029
B.T.B. test	6.7	6.6	6.8	6.8
脂 肪 率 %	2.5	3.2	2.6	3.3
細 菌 数 1000	100	0.5	50	0

註 細菌種は Streptococcus

第8表 無治療の成分変化

搾乳月日	全窒素 mg %	カゼイン以外窒素 mg %	全 燐 mg %	全石灰 mg %	電導度 × 10 ⁻³	塩 素 mg %	乳糖 %	脂肪 %	比重 10°C	pH	B.T.B. test	酸 度 %	細胞数 1000
6.20	522.0	94.4	80.7	132.0	5.4	127.2	3.8	3.3	1.027	6.6	6.6	0.108	180
8.10	594.3	102.5	93.5	125.4	6.4	181.2	3.6	3.0	1.021	6.8	7.0	0.068	2,180

註 菌種は Streptococcus

8表に示す通りである。菌種は Streptococcus 属のものをえらんだ。

(2) 実験結果

治療後はその乳中の全窒素、全燐、全石灰脂肪等が増加して正常値に近づき、カゼイン以外の窒素も減少しているが、乳糖、塩素、電導度において正常値とはいえない。従ってペニシリンにより短時日で外症的に治療したとなすいわゆる Barn test だけでは不十分である。この

ことはペニシリンの乳汁移行^{14,103)}の問題と共に注意すべきことと思考する。

(3) 要 約

Subclinical Mastitis 乳を分泌する乳牛の乳頭にペニシリンを注入することにより、細菌的に又外部症状的に短期日で経過が良好であっても乳成分の正常化は緩慢であった。

III. Subclinical Mastitis 乳の乳蛋白の性状について

一般に乳房炎牛の乳汁では可溶性蛋白量が増加するといわれ^{11,36,48,62)}, Casein NUMBER でその関係を述べた報告や¹⁰⁶⁾, 酸沈澱以外の蛋白をすべてアルブミン, グロブリンとすることの危険を報ずる前野⁷⁷⁾の例があるが, 乳蛋白の詳細な研究は最近迄極めて少ない。筆者は乳蛋白の性状を更に詳しく知らんがため, 次のような各実験を試みた。

(1) 実験の部

A. PASTEUR chamberland ホエーの塩素結合量

一般に血清蛋白はイオンの結合量が多いといわれる^{61, 71)}ので, 血清蛋白の多いと思われる Subclinical Mastitis 乳のホエーのイオン結合量を正常乳と比較した。

イ. 実験方法

Chamberland ホエーは供試乳を PASTEUR chamberland L₃⁷⁴⁾を通過させた液である。イオン結合は蛋白と塩素の結合量を求め, その方法は上記の液をセロファン紙膜で6時間流水で, 後12時間蒸溜水で, 2時間毎に蒸溜水を取り換えながら透析した。次にこの透析液を一定量にしその2.5 ccを1/10 N NaCl 5 ccと共にセロファンに入れ, 40 ccの蒸溜水で攪拌しながら5°Cで12時間透析した。この方法の略図は第2図の通りである。塩素結合力は透析外液の塩素を滴定した1/10 N AgNO₃ cc 数で表わした。

すなわち, 試料を入れず1/10 N NaCl だけで透析した場合の cc 数 Y, 供試液を入れた場合を X とすれば結合された塩素の比較値は (Y-X) で表わされる。尚あらかじめ10時間以内に透析される塩素量が一定なることを認めた。又比較するため次の各蛋白液を作製して実験に供した。

酸カゼイン液: HAMMERSTEN 法^{59,131)}で採ったカゼインを7.6の磷酸緩衝液にとかし透析後供試した。

遠心分離カゼイン液⁵⁾: SHARPLES 超遠心機で, 40000

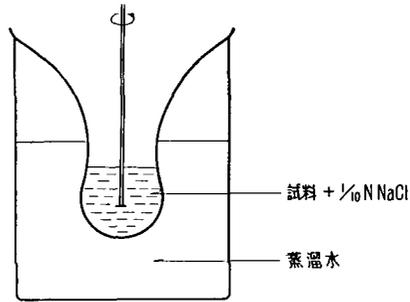
r.p.m. 15分間回転してカゼインをとり上記と同じく作製した。

β-ラクトグロブリン液: 硫酸, 硫酸ソーダで塩析分割⁵¹⁾したβ-ラクトグロブリンを同様にして作製した。

変性カゼイン液: 上記酸カゼイン液に微量のトリプシンを添加し, 36°C 10分作用させて後供試した。尚各液は窒素量が150 mg %になるように調整した。

ロ. 実験結果

以上の結果では Subclinical Mastitis の塩素結合量は



第2図 測定装置略図

第9表 塩素結合量

試料	(Y-X)
正常乳	No. 1 0.60
	No. 2 0.55
	No. 3 0.70
subclinical Mastitis No. 4	1.05
No. 5	0.80
No. 6	0.70
乳酸カゼイン	0.01
遠心分離カゼイン	0.04
変性カゼイン	0.08
β-ラクトグロブリン	1.03

第10表 供試菌の性状^{46,90)}

菌種	Fermentation			Nitrate reduction	Liquefaction of gelatin	Coagulase
	NH ₃ H ₂ PO ₄	Manitol	Lactose			
Sta. 161	±	-	+	+	+	+
Mic. 900	+	-	-	-	+	
Mic. 537	+	+	+	-	+	
Str. 149	血清反応により Str. agalactiae と認められたもの					

他のものに比較して若干多いが、酸カゼイン液は殆んど結合しなかった^{18,105)}。遠心分離カゼインも極めて少ないが変性カゼインは少し増加し、 β -ラクトグロブリンの結合量は最も多かった。

B. 滅菌脱脂乳中における起炎菌の生育状態

中川⁹⁰⁾は Staphylococcus の溶血現象をみるために本

菌を血液培地にうえ、菌の周囲が透明になるのから本現象を証明しているが、筆者はこの方法を利用し、二、三の起炎菌によるカゼインの利用状況を肉眼的に観察した。

4. 実験方法

供試起炎菌は北大獣医学教室にて Subclinical Mastitis 乳より分離⁴⁶⁾したもので、その性状は第10表の通りである。普通寒天培養基に滅菌脱脂乳を10%添加してシャーレに流しこみ、各菌を直接白金耳にて移植して37°Cで48時間培養して菌の周囲の状況を観察した。その結果は第3図の如くである。

ロ. 実験結果

尚(S)は滅菌脱脂乳を入れた場合、(C)は入れない場合である。滅菌脱脂乳をシャーレに流しこむと、カゼイン粒子の光の乱反射で一様に乳白色に見えるが、第3図のように菌の周囲が透明になったことはカゼインが菌に利用されたことを意味する。特に Micrococcus 900 が鮮明であった。

C. カゼイン溶液中における起炎菌の生育状態

可及的にカゼイン含量の多い試料を作り、起炎菌のカゼインに対する作用を検討した。

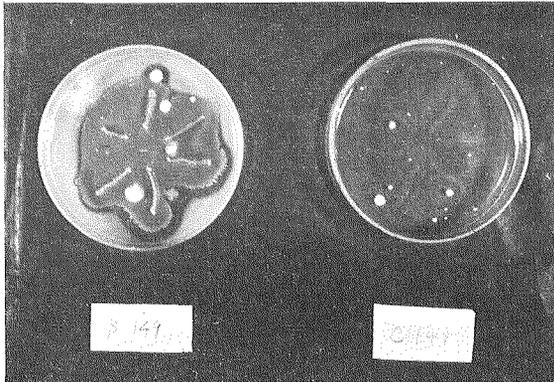
4. 実験方法

新鮮脱脂乳より HAMMERSTEN 法^{59,131)}で採取したカゼインを pH 7.4 磷酸緩衝液に2~3%になるようにとかし、100°Cで間歇滅菌をほどこした。この液50ccに菌を培養した。すなわち起炎菌を pH 7.0 の肉汁に植え、37°C 24時間培養して細菌浮遊液を作成し、之を100倍稀釈した後、その1ccを前記カゼイン液に加え、37°Cで培養して4時間、8時間後の生菌数を平面培養法によって見た。稀釈は滅菌生理的食塩水を用いた。

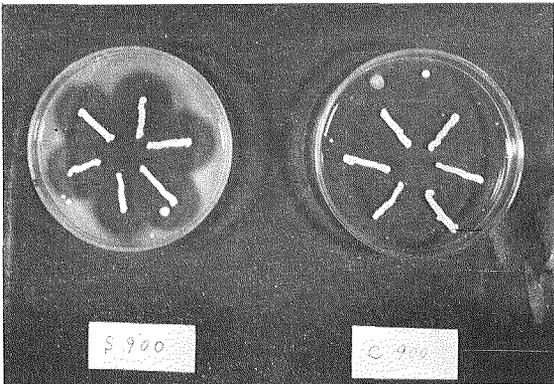
ロ. 実験結果

結果は第11表の如くでいずれもよくカゼインを利用しており、中でも Micrococcus 900 が著しかった。なおカゼイン液の腐敗臭も凝固も見られなかった。

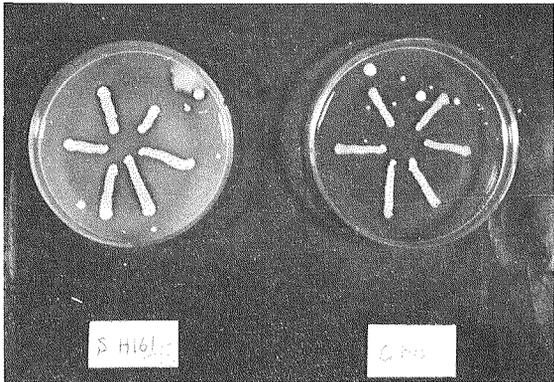
D. 起炎菌培養カゼイン液中の非蛋白性物質生成



No. 1. Str. 149



No. 2. Mic. 900



No. 3. Sta. 161

第3図 起炎菌の滅菌脱脂乳中における生育状態

第11表 カゼイン液中の生育状態

菌種	生菌数		
	0 培養時間	4 培養時間	8 培養時間
Str. 149	500	1,500	100,000
Sta. 161	3,200	16,000	550,000
Mic. 537	800	2,000	150,000
Mic. 900	3,600	79,000	1,030,000
対 照	0	0	0

実験 B.C. より起炎菌がカゼインをよく利用することが判明したので除蛋白液中における非蛋白性物質の生成状況を観察した。

イ. 実験方法

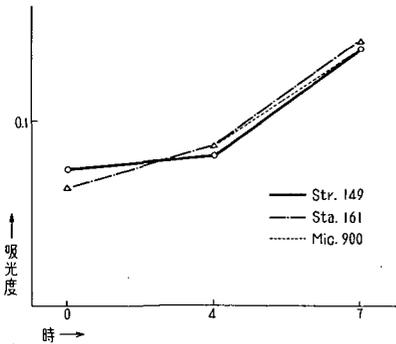
蛋白消化測定は実験Cの培養カゼイン液で CCl_3COOH を用うる FOLIN 比色法⁴⁰⁾を採用した。比色は日立製分光光度計を使用した。

ロ. 実験結果

実験結果は第12表及び第4図の如くである。尚非蛋白物質は吸光度で表わした。いずれも多少吸光度が増加しているが、勿論カゼイン分解以外に細菌自体の分泌物、崩壊物もふくまれる。

第12表 非蛋白物の生成 (吸光度を示す)

菌種	培養時間		
	0	4	7
Str. 149	0.075	0.081	0.120
Sta. 161	0.065	0.087	0.125
Mic. 900	0.065	0.087	0.120



第4図 非蛋白物質成曲線

E. 起炎菌培養カゼイン液中の酸可溶性窒素生成

第1章においてカゼイン以外の窒素の増加が Subclinical Mastitis 乳で認められるとのべ、その原因が血液蛋白の移行ばかりでないと考察したがこれを詳細に調べるため、培養カゼイン液の pH 4.6 沈澱カゼイン量の変化を検討した。

イ. 実験方法

一定量の菌培養カゼイン液を稀醋酸で pH 4.6 にし、生じた沈澱を濾別して一定量に稀釈してこの液より一定量を取り、この窒素量を全窒素から差引いてカゼイン量を測定した。

ロ. 実験結果

結果は第13表の如くで、培養時間の増加と共にカゼ

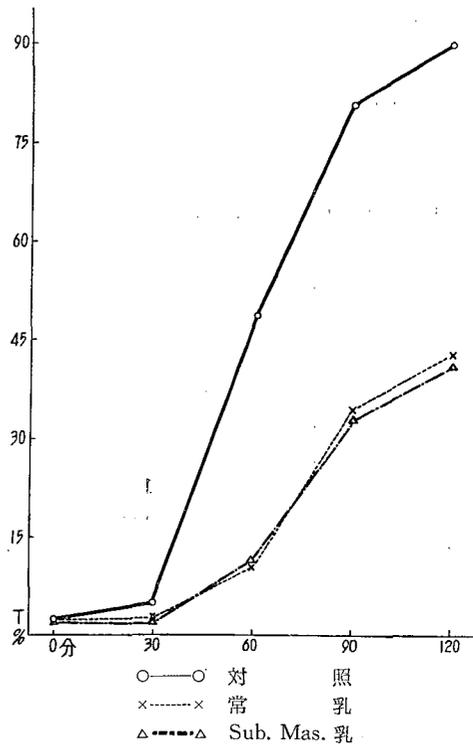
第13表 酸可溶性窒素の生成

培養時間	0 時		6 時	
	窒素体			
	カゼイン窒素 mg %	酸可溶性窒素 mg %	カゼイン窒素 mg %	酸可溶性窒素 mg %
Str. 149	264.1	10.6	255.3	19.4
Sta. 161	260.7	10.3	253.3	17.7
Mic. 900	276.2	8.6	267.4	16.8

インは減少し、酸可溶性窒素が増加して、カゼインの変性を推察し得た。

F. カゼイン液の保護膠質作用

カゼインの多様性については古くは LINDERSTROM-LAND⁶⁶⁾の研究があり、最近酵素やレンネットに対する $\alpha, \beta, \gamma, \kappa$ 等の各カゼインの役割について興味ある研究^{45,115,125)}がなされている。筆者はこの種の研究に対する一つの試みとして次の如き実験を企図した。すなわち α, β 等のカゼイン間に相互作用⁶⁶⁾があるならば先述の如き一部カゼインの変性が見られる Subclinical Mastitis 乳のカゼインと正常乳カゼインとでは保護膠質作用に差



第5図 カゼインの保護膠質作用

異があろうと考え、本実験を行なったのである。

イ. 実験方法

保護膠質作用^{107,108)}を見るため銀膠質液¹⁰⁶⁾を作成し RACKWITZ 法¹⁰⁶⁾によった。すなわちこの液に下記の如き供試液を加え、塩析に硫酸ソーダを加えてプルフリヒ比濁計で時間的な濁度の変化を調べた。供試液は健康牛乳及び Subclinical Mastitis 乳を 2000~3000 r.p.m. で脱脂乳を作り、SHARPLES 超遠心機で 20000 r.p.m. 10 分回転して、生じたカゼインを直ちに蒸溜水で 3% の濃度に稀釈した。なお銀膠質液と増感現象を起さぬよう、又稀釈変性を起さぬよう考慮して、毛細管で 0.01 cc を用いた。

ロ. 実験結果

結果は第 5 図の如くであり、対照は銀膠質液に硫酸ソーダのみを加えた場合を示す。対照の場合は明らかに短時間で濁度が減じ塩析に抵抗力がないこと、すなわち保護膠質作用がないことを示した。然し Subclinical Mastitis 乳と常乳のカゼインの間には差が認められなかった。これは供試カゼインの稀釈変性¹⁵⁶⁾のためかもしれない。

(2) 要 約

1. Subclinical Mastitis 乳のホエー中の窒素は乳清蛋白その他の窒素以外に細菌によって変性されたカゼイン態窒素を含んでいた。

2. Subclinical Mastitis 乳より分離した Streptococ-

cus agalactiae 149, Staphylococcus 161, Micrococcus 900, Micrococcus 537, はいずれもカゼインをよく利用した。

IV. Subclinical Mastitis 乳の酵素活性度について

筆者は Subclinical Mastitis 乳の性状を知る一環として又その診断予防と利用面に於ける一層の注意を目的として本乳の酵素活性度を比較的牛乳の研究分野に重要な酵素について追求した。

(1) 実験の部

A. Catalase activity

Catalase は広く動物体に存在し、白血球に起因することが多く¹¹¹⁾ 古くから乳房炎乳の判別に適用されている^{22,111,104,88)}。筆者は第 1 章の乳成分分析と平行して、Subclinical Mastitis 乳の Catalase activity を検討した。

イ. 実験方法

供試乳は第 3 章の Subclinical Mastitis 乳で搾乳後 2 時間以内に実験を行なった。なお搾乳後 15°C 2, 4 時間、保存中の Catalase activity に有意の差がなかった。測定方法は LOBECK Catalase testtube に 15 cc の試料を入れ、5 cc の 1% 過酸化水素を加え、よく混合後、25°C で 2 時間放置する。後取出して発生したガス量を testtube の目盛で読みとるのである。

ロ. 実験結果

第 14 表 Subclinical Mastitis 乳の Catalase-activity

牛番号	酸度 %	B.T.B.	比重 15°C	脂肪 %	乳糖 %	電気伝導度 ×10 ⁻³	細胞数 (1000)	細菌種類	catalase activity cc
1	0.135	6.6	1.028	3.7	4.0	4.90	780	Micro.	3.3
2	0.162	6.6	1.030	4.1	4.2	4.75	125	Micro.	1.5
3	0.135	6.7	1.030	3.2	3.6	5.66	250	Strept.	7.2
4	0.130	6.8	1.029	3.3	3.6	5.30	50	*—	0.5
5	0.163	6.6	1.027	2.7	3.1	6.50	168	Micro.	7.0
6	0.163	6.6	1.028	3.1	3.4	5.92	99	Staphylo.	3.5
7	0.135	6.6	1.029	2.6	3.8	5.91	23	*—	1.5
8	0.162	6.4	1.031	4.6	4.0	5.50	41	Staphylo.	3.0
9	0.090	7.0	1.026	2.4	1.9	7.70	2,100	Staept.	9.2
10	0.072	7.0	1.027	1.9	1.9	7.90	2,200	Strept.	10.0
11	0.077	7.0	1.024	1.8	1.7	8.30	2,600	Str.+Mic.	9.2
12	0.095	6.8	1.025	2.2	1.7	7.30	1,900	Str.+Mic.	8.0

註 Catalase activity は LOBECK test tube の目盛数

* ※ペニシリンを注入して経過良好のもの (注射後 6 日経過)

尚健康牛乳はすべて 2.5 cc 以下であつた (-) は起炎菌が検出されなかつたことを示す

結果は第 14 表の如くである。Subclinical Mastitis 乳の Catalase activity はその病状とよく一致して増減し、特に細胞数と相関が強かった。

B. Rennet clotting test

乳汁は哺乳動物の胃に分泌せられる Rennin によって凝固するものでさるが、その凝固機構は今なお詳でない。此の凝固作用の最適 pH は 5.35⁷³⁾ であり又動物血清が凝固抑制として働き^{75,126)}、之が血清中の蛋白と関係が深

い⁷⁵⁾と云われている。従って pH が上昇し、血清成分の移行が考えられる Subclinical Mastitis 乳が本作用において常乳と異なることが想像され得る。この作用を病乳の検査に利用した報告²³⁾は少ない。筆者は Subclinical Mastitis 乳と常乳の比較を試みた。

1. 実験方法

供試乳は搾乳後 1~2 時間の牛乳を用いた。尚 15°C で 2, 4 時間保存後の本作用に有意の差は認められなかつ

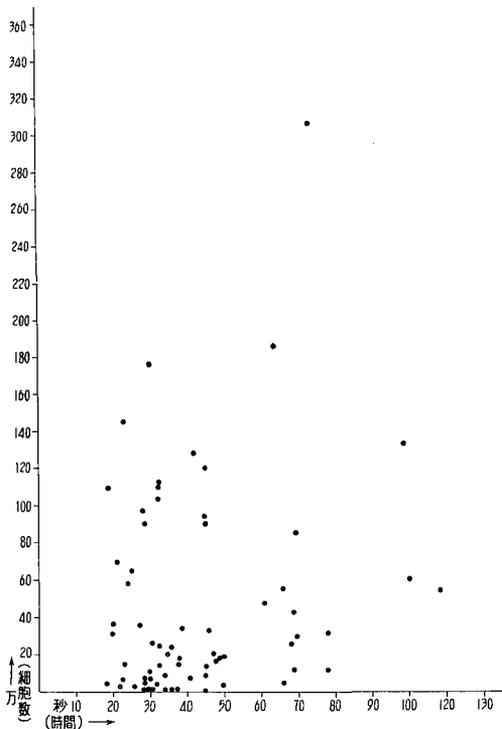
第 15 表 Rennet clotting 試験結果

牛 No.	分房	凝固に要した時間 (秒)	細胞数 (1000)	菌 種	pH	White side test
1	I	50	190	Mic.	6.8	-
	II	49	190	(-)	7.0	-
	III	45	130	(-)	6.9	-
	IV	64	1,850	Mic.	6.9	+
2	I	47	200	(-)	6.9	-
	II	68	260	(-)	6.9	-
	III	74	3,070	Staphylo.	6.9	+
	IV	98	1,330	Str.	6.8	+
3	I	2,800	720	Str.	7.0	+
	II	78	310	(-)	6.8	±
	III	50	40	(-)	6.8	-
	IV	50	40	(-)	6.7	-
4	I	66	31	(-)	6.8	-
	II	69	116	Mic.	6.7	-
	III	30	70	(-)	6.6	-
	IV	26	20	(-)	6.6	-
5	I	100	600	Mic.	6.8	+
	II	3,000	2,820	Mic.	6.8	+
6	I	45	940	Staphylo.	6.8	-
	II	32	1,130	Mic.	6.8	+
	III	33	1,150	Str.+Mic.	6.8	+
	IV	19	1,020	Mic.	6.8	+
7	I	23	60	(-)	6.7	-
	II	20	370	Mic.	6.6	-
	III	20	310	Mic.	6.6	-
	IV	18	40	Mic.	6.6	-
8	I	25	620	(-)	6.8	+
	II	24	580	Str.	6.8	+
	III	28	350	(-)	6.7	±
	IV	55	6,240	Str.	7.0	+
9	I	69	870	Str.	7.0	+
	II	70	210	(-)	6.8	±
	III	33	50	(-)	6.6	-
	IV	36	40	(-)	6.6	-
10	I	66	540	Str.	6.8	+
	II	38	140	(-)	6.6	±
	III	61	470	(-)	6.8	±
	IV	41	40	(-)	6.6	+

第 16 表 Rennet clotting 試験結果

牛 No.	分房	凝固に要した時間 (秒)	細胞数 (1000)	菌 種	pH	White side test
11	I	1,000*	7,290	Str.	7.0	+
	II	108*	530	Str.	6.9	-
	III	1,000	2,850	Str.	7.0	+
	IV	78	110	(-)	6.6	-
12	I	31	260	Mic.	6.6	-
	II	30	110	(-)	6.4	-
13	II	39	340	Mic.	6.4	-
	III	32	40	(-)	6.4	-
14	III	30	70	(-)	6.6	-
	IV	29	50	Mic.	6.6	-
15	I	46	330	Mic.	6.7	-
	II	32	1,030	Str.+Mic.	6.8	+
	IV	42	1,290	Str.	6.8	+
16	I	30	10	(-)	6.7	-
	II	38	170	(-)	6.6	-
	IV	34	70	Mic.	6.6	-
17	I	45	90	Str.+Mic.	6.4	-
	II	48	190	Mic.	6.6	-
	III	30	1,750	Str.	6.8	±
18	I	37	10	(-)	6.4	-
	III	36	10	(-)	6.4	-
19	I	45	1,200	Str.	6.9	+
	II	30	100	(-)	6.7	-
	III	26	50	(-)	6.7	-
	IV	28	900	Str.	6.8	+
20	I	24	150	Mic.	6.6	-
	II	20	30	Mic.	6.7	-
	III	23	0	Mic.	6.6	-
	IV	22	150	(-)	6.6	-
21	I	31	1,100	Str.	7.0	+
	II	35	20	(-)	6.8	-
	III	33	7,500	Mic.	7.0	+
	IV	33	1,400	Mic.	7.0	+

註 I…左前, II…右前, III…左後, IV…右後,*…凝固せず, (-)…起炎菌が検出されなかつたもの



第6図 細胞数と Rennet clotting 時間との関係

た。Rennet 液は POURRUIS 製 Rennin 錠剤を可及的に細粒に粉碎し、試験直前に 1g を 50 cc の蒸留水にとかし濾過後直ちに供試した。供試乳 10 cc に Rennet 液 1 cc を加え沈澱物が生ずる迄の時間をストップウォッチで測定し、検査温度は $37^{\circ}\text{C} \pm 1$ であった。

ロ. 実験結果

結果は第 15 表及び第 16 表の如くである。本実験方法では正常乳の平均 Rennet clotting に要する時間は 30~40 秒であった。一般に同じ個体の分房では症状の悪いもの程凝固迄の時間が遅延しているが、相互間には関連性は少ない。この事実は細胞数においても同様で之を相互の相関図に表わすと(第 6 図) 普遍性は少ないことになる。菌種別には Rennet clotting 作用に著して差異は認められなかった。

C. Protease activity

牛乳中に非細菌性の蛋白分解酵素の存在が考えられ、STORRS 等¹²¹⁾ は牛乳の酵素活性度は人乳の約 1/4 であると述べ、WARNER 等¹³²⁾ はこの種酵素を α -カゼイン区分から抽出している。之等は主としてトリプシン様性質を持っていると云われている⁴⁵⁾ が未だ明確ではない。

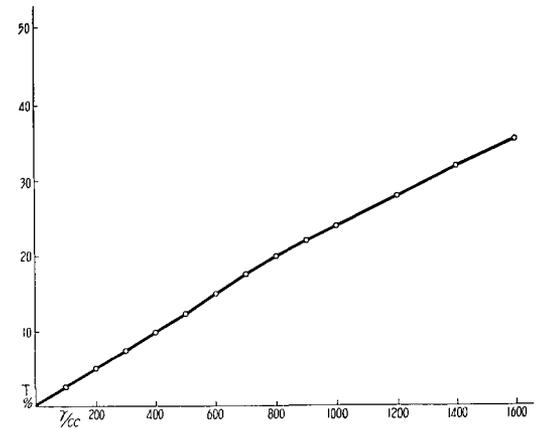
筆者は Subclinical Mastitis 乳と正常乳とのトリプシン様酵素活性度の比較を試みた。

イ. 実験方法

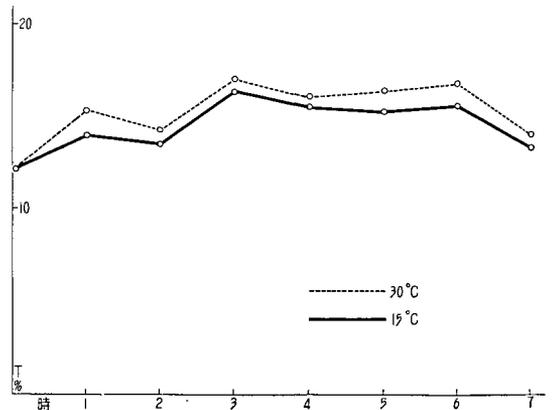
活性度測定法には酵素の非蛋白性物質の生成量を測定する方法⁴⁰⁾ を用い、FOLIN 試薬³⁴⁾ で発色させて日立製光電比色計で見た。尚酵素活性度はあらかじめ作製したトリプシンの標準曲線と照合してトリプシン量で表わした。

ロ. 実験結果

トリプシン標準曲線は第 7 図の如くで又搾乳後試料保存による呈色量の変化は第 8 図の如くで、本実験の場合保存の影響はなかった。結果は Phosphatase activity の実験 D と併せて報告する。



第7図 Trypsin の標準曲線



第8図 Trypsin 活性に与える試料保存の影響

D. Phosphatase activity

DEMUTH 等²⁶⁾ が牛乳中に Phosphatase を検出し、GRAHM 等²⁷⁾ によってこれが非細菌性のものであることが発表されて以来、Phosphatase の研究は数多く^{38,45, 58,63,94)} なされ、中でも alkaline Phosphatase が最も重視^{35,95)} されている。然し乳房炎乳について追究された報

告⁶⁷⁾は少ない。筆者は alkaline Phosphatase activity を正常乳のそれと比較検討した。

イ. 実験方法

alkaline Phosphatase の常乳中における含量は測定法により差があることが報ぜられているが³⁹⁾, 最近この定量に効果が多いと云うブタノール抽出法^{44, 95, 109)}を用いた。尚この測定値をフェノール標準曲線⁹³⁾と照合して試料中の alkaline Phosphatase の比較値とした。なお予備実験として搾乳後 15°C で時間的な Phosphatase activity

第 17 表 健康牛の酵素活性

牛 No.	Protease activity (トリプシン r/cc)	Phosphatase activity (フェノール r/0.05 cc)
1	440	18
2	400	26
3	320	23
4	360	24
5	320	19
6	200	35
7	320	22
8	230	23
9	320	23
10	360	29
11	360	24
12	230	3
13	330	4
14	230	3
15	300	4
16	230	7
17	280	10
18	280	19
19	330	17
20	370	14
21	360	15
22	520	10
23	630	12
24	420	25
25	400	22
26	600	35
27	480	34
28	440	22
29	480	19
平均	380	20

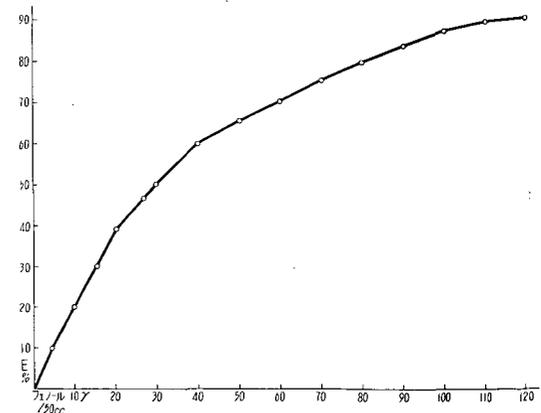
を測定したが、本実験の保存範囲内では全く変化はなかった。

ロ. 実験結果

標準曲線は第9図の如くProtease activity, Phosphatase activity の常乳乳, Subclinical Mastitis の実験結果は第17表及び第18表の如くである。本実験に供した Sub-

第 18 表 Subclinical Mastitis 乳の酵素活性

牛 No.	乳期月	細胞数 (1000)	起炎菌種	Protease activity	Phosphatase activity
1	5	280	Mic.	200	35
2	4	300	"	200	22
3	7	300	"	560	87
4	9	480	"	480	121
5	8	140	"	520	92
6	8	290	"	520	84
7	3	800	Staphy.	640	36
8	2	1,290	Mic.	720	86
9	2	630	"	480	121
10	2	670	"	520	92
11	8	570	"	480	84
12	8	920	"	480	55
13	3	2,010	Str.+Mic.	520	36
14	3	1,700	Mic.	280	19
15	3	1,600	Str.	220	18
16	2	∞	"	640	67
17	2	∞	"	480	60
18	2	1,380	Str.+Mic.	520	30
			平均	440	63



第 9 図 フェノール標準曲線

clinical Mastitis 乳は比較的症狀の顯著な牛体からのものであったが、いずれも正常乳との差が認められ、特に Phosphatase activity に著しかった。然し Phosphatase 等は乳期と関係が深いのでより深い研究を期待したい。両 activity の間に著しい相関は認められず、又菌種別にも明らかな特徴は本実験では認められなかった。

(2) 要 約

1. Catalase activity は比較的 Subclinical Mastitis 牛の症狀と平行して高くなることが認められたが、正常乳期でこの値の高いものは本症と疑って良いと思われる。

2. Rennet clotting test は Subclinical Mastitis の中で症狀の顯著なものには試験として適応し得るが、輕症のものでは明確ではなかった。

3. 実験に供した Subclinical Mastitis 牛は比較的症狀の明らかなものであったが、Protease activity 及び alkanin Phosphatase activity 共健康牛乳より高く、後者はその差が著しかった。

V. Subclinical Mastitis 乳の酒精検査について

酒精検査は古くからわが国で利用され、病乳との関係について数多くの研究がなされて居り、獣医学的な病乳は本検査に陽性になると云われている。然し Subclinical Mastitis 乳についての研究報告は極めて少ない。現在乳質向上が叫ばれている状況に鑑み、本実験を企図したものである。

(1) 実験方法

供試料は第1章の第合と同じであり、成分検査法も同様である。酒精検査は70%中性エチルアルコールを用い15°Cで常法に従った。尚凝固の状態に応じて(-), (+), (++) 等に区別した。

(2) 実験結果

結果は第19表に示す通りである。本実験結果によれば No. 9, 10, 11, 12 の牛は乳房炎として重症牛であるが、検査はかかる重症牛の場合陽性となり、Subclinical

第19表 Subclinical Mastitis 乳成分と酒精検査

牛 No.	酸度 %	pH	比重 15°C	脂肪 %	乳糖 %	塩素 mg %	電気伝導度 $\times 10^{-3}$	全石炭 mg %	可溶性石 mg %	全磷 mg %	可溶性燐 mg %	全窒素 mg %	A.N. mg %	細菌数 (1000)	酒精検査
1	0.135	6.6	1.028	3.7	4.0	120.4	4.9	185.2	50.0	87.5	—	528.5	104.0	Mic. 14	—
2	0.162	6.4	1.030	4.1	4.2	115.0	4.8	152.5	42.2	90.9	25.4	489.5	105.0	Mic. 15	—
3	0.135	6.6	1.030	3.2	3.6	168.5	5.7	138.2	—	107.9	20.5	596.5	82.0	Str. 20	±
4	0.130	6.8	1.029	3.3	3.6	152.0	5.3	138.2	39.0	100.0	35.0	609.0	33.0	Str.	±
5	0.163	6.4	1.027	2.7	3.1	—	6.5	87.1	39.8	117.7	35.6	504.0	97.0	Mic. 112	—
6	0.135	6.8	1.029	2.6	3.8	—	5.9	95.2	24.2	66.4	23.8	490.0	88.0	Str.	—
7	0.161	6.4	1.031	4.0	4.0	—	5.5	130.8	49.9	76.1	30.6	546.0	81.0	Str.	—
8	0.163	6.6	1.028	3.1	3.4	—	5.9	82.3	30.2	60.9	17.1	420.0	96.0	Sta. 10	—
9	0.090	7.0	1.026	2.4	1.9	—	7.7	—	—	—	—	—	121.0		++
10	0.072	7.0	1.027	1.9	1.9	—	7.9	—	—	—	—	—	104.0		++
11	0.077	6.8	1.024	1.8	1.7	—	8.3	—	—	—	—	—	108.0		++
12	0.095	6.8	1.025	2.2	1.7	—	7.3	—	—	—	—	—	118.0		++

Mastitis 乳では殆んど陰性であった。この事実は FOESTER³²⁾ も述べて居り、乳質検査で酒精検査のみを重視することの危険性を意味しているものと思われる。

(3) 要 約

1. 乳房炎重症牛の分泌乳では酒精検査に対して陽性となるが Subclinical Mastitis 乳では陰性を示す場合が多いので本検査法は Subclinical Mastitis 乳の検査法として適当ではない。

VI. Subclinical Mastitis 牛の尿成分と乳成分の関連性について

第1章に述べた如く Subclinical Mastitis 乳においてカゼイン以外の窒素、乳糖、塩類、電気伝導等水溶性の成分変動が特に認められたが、同様の傾向が尿成分にも認められないかどうかを想定し、もし著明な変化があれば、それより乳成分変動機構を追求せんとして本実験を企図したものである。

第20表 尿 成 分 表

牛 No.	石 炭 mg %	電気伝導度 ×10 ⁻³	塩 素 mg %	全 窒 素 mg %	クレアチニン mg %	還元物質 (ブドー糖) mg %	乳 糖
1	11.0	25.7	—	902.3	270	630.5	++
2	24.5	20.9	—	903.0	375	607.4	++
3*	42.0	22.6	—	1,005.0	380	962.0	+
4*	30.0	21.1	—	774.9	—	—	+
5*	34.0	20.2	—	1,331.0	265	1,072.0	++
6	14.5	—	216.0	1,658.5	263	840.5	±
7	25.1	—	255.0	1,365.9	221	580.5	+
8*	60.4	—	503.0	—	233	962.5	++
9	68.7	—	268.0	1,824.2	242	672.5	+
10	21.1	—	295.1	1,575.5	184	852.4	+
11	20.5	—	384.6	1,464.9	190	584.0	+
12	23.3	—	195.5	1,117.5	165	676.0	+
13	13.6	—	710.5	1,475.6	224	630.0	+
14	13.3	—	210.6	1,053.5	—	491.5	—
15	11.6	—	581.1	1,352.4	184	480.0	—
16×	21.2	—	410.0	1,492.4	266	648.0	—
17×	14.8	—	650.6	1,710.1	304	631.8	±

(1) 実験方法

健康牛及び Subclinical Mastitis 牛との尿を午前10時にカテーテルで採尿した。石灰、電気伝導度、全窒素、塩素の測定は第1章と同じ方法で行なった。クレアチニンは飽和ピクリン酸を使用する方法¹¹⁴⁾、還元物質量は HAGEDORN-JENSEN 法¹¹⁵⁾を用いた。又尿中の乳糖の定性をクロマトグラム法^{98,99,121)}で行なった。

(2) 実験結果

尚第20表中 * 印は Subclinical Mastitis 牛、その他は健康牛で、× は泌乳していない牛である。Subclinical Mastitis 牛はいずれも Streptococcus 型の乳汁を出す牛ですべてホルスタイン種である。Subclinical Mastitis 牛においては、多少還元物質量が多い程度で他成分に大きな差は認められなかった。尚乳糖の定性試験で泌乳牛の尿にすべて乳糖が確認出来たが量的に大きな差は認められなかった。けだし尿成分の分析定量には1日の尿を集めねばならぬこと、飼料、飲料水によって変化し易いことから正確な値が期し難く、本結果から直ちに推論を下す事は困難と思考する。

(3) 要 約

1. Subclinical Mastitis 乳に変動の多かった成分の乳中と尿中の間に明らかな関連性は認められなかった。

2. Subclinical Mastitis 牛の尿中の還元性物質量は健康牛の尿よりも幾分多かった。

3. 乳糖が健康牛、Subclinical Mastitis 牛を問わずすべての泌乳牛尿に認められた。

VII. Subclinical Mastitis 乳より分離した Staphylococcus aureus に対する生乳の発育抑制作用について

北海道における1955年の粉乳中毒事件以来乳房炎菌の中で、特に食品衛生面で重要視されてきた Staphylococcus 類の中、 α -Toxin を出す Staphylococcus aureus⁴⁶⁾ についてその発育抑制作用を先ず生乳において検討した。この目的は本菌の特性を知るためばかりでなく、生乳の抑制作用が、細菌に対する低抗性にも関連するので乳房炎の治療、その他乳製品製造面への応用利用に資せんがためである。細菌に対する生乳の発育抑制作用は、FOKKER³³⁾、JONE³⁷⁾ 等により発表され、之を Lactenin と名付けた。AUCLAIR³⁾ は Lactenin が St. agalactiae, dysagalactiae の乳房炎菌にも抑制作用を示すことを報じ、EDWARD³¹⁾、MORRIS³⁰⁾ 等は生乳に Staphylococcus albus, citreus, aureus に抑制作用を示すものがありと報告しているが BERRIDGE¹³⁾ は之は Lactenin とは別なも

のと考えている。いずれにしても牛乳中の未解決物質の一つとして現在でもあげられ¹³³⁾更に進んだ研究が要請されている。

(1) 実験の部

A. 牛乳の細菌発育抑制作用

イ. 実験方法

供試生乳は北大附属農場の泌乳中期で抗生物質の与えられていない健康ホルスタインを選び、搾乳後直ちに3000 r.p.m. で脱脂乳として使用した。供試細菌は北大獣医学部細菌学教室にて Subclinical Mastitis 乳より分離した Staphylococcus aureus (α-Toxin)⁴⁶⁾ を使用した。培養基は pH 7.0 の肉汁寒天を使い細菌浮遊液として肉汁を用いた。稀釈水は滅菌生理食塩水を用いた。細菌発育抑制作用を調べる方法は種々¹¹⁰⁾ があるが、筆者は本菌が黄色色素を出すことを利用して他細菌と区別した。すなわち、供試液と滅菌脱脂乳とを混合した液(1:4)20 cc に、37°C で24時間培養した Staphylococcus aureus の肉汁浮遊液(100倍稀釈液の1cc)を加え、つぎに之を37°C で培養し、時間的に生菌数(黄色コロニー数)を平面培養法で求め、その増加率によって発育抑制作用を見た。

ロ. 実験結果

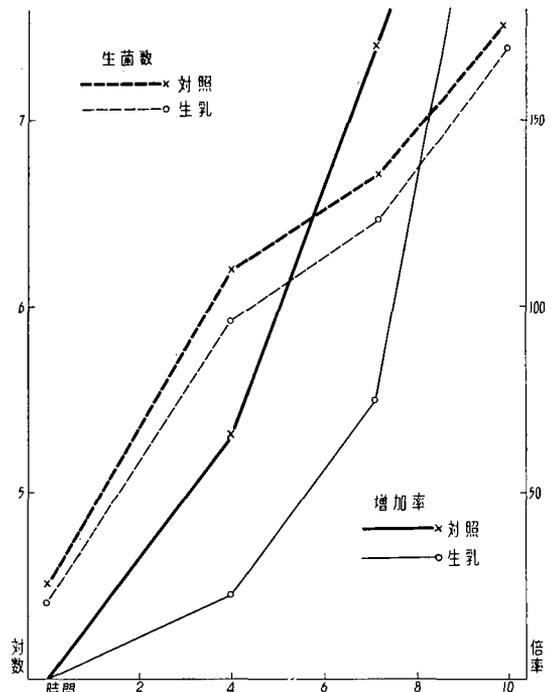
その結果は第21表で、それを生菌数の対数と増加率曲線で示したのが第10図である。

対照と比較して37°Cで4時間迄はその発育抑制作用が強く、7時間では弱まり、6~7時間内外ががこの作用の持続限界と思われる。

B. 各分房別の生乳の細菌発育抑制作用

第21表 生乳における Staph. aureus の増加率

培養時間(時)	新鮮乳を添加した時の生菌数(1000)	増加率	滅菌脱脂乳のみの生菌数(1000)	増加率
0	34.0	1.	27.5	1.
4	790.0	23.1	1,760.0	64.0
7	2,600.0	76.5	4,420.0	167.0
10	32,130.0	945.0	35,645.0	1,296.0



第10図 生乳の Staph. aureus の発育曲線

イ. 実験方法

実験 A は混合乳であったが、各分房別に採取前記同様の方法で調べた。

ロ. 実験結果

実験結果は第22表及び第11図の如くである。同一乳牛の各分房によって多少の差はあるがどの分房も明らかに抑制作用をもっていることが認められた。従って以後の実験はすべて混合新鮮乳を用いた。

C. 細菌発育抑制作用に与える加熱の影響

37°C で培養する関係上加熱温度の影響を見た。

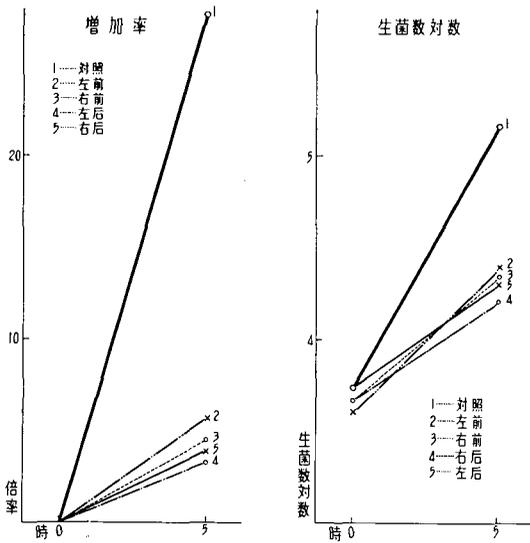
イ. 実験方法

各々 50, 75, 85°C 15分加熱して実験 A と同じ方法で行なった。

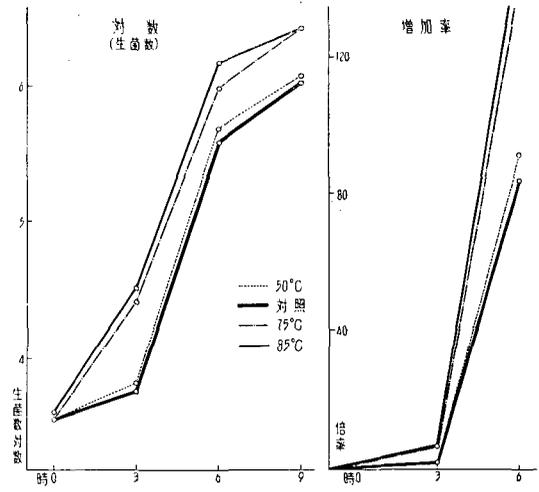
ロ. 実験結果

第22表 各分房別の細菌発育状態

培養時間	対 照		分 房 別							
			右 前		右 後		左 前		左 後	
	生菌数(1000)	増加率	生菌数(1000)	増加率	生菌数(1000)	増加率	生菌数(1000)	増加率	生菌数(1000)	増加率
0	5.3	1	5.0	1	5.5	1	4.0	1	4.8	1
5	147.0	27.7	23.0	4.6	22.0	4.0	24.0	6.0	17.6	3.5



第11図 各分房別の増加曲線



第12図 温度による増加曲線

第23表 細菌数に及ぼす加熱の影響

培養時間	対 照		50°C		75°C		85°C	
	生菌数 (1000)	増加率	生菌数 (1000)	増加率	生菌数 (1000)	増加率	生菌数 (1000)	増加率
0	4.5	1	4.8	1	4.2	1	4.3	1
3	6.2	1.2	6.4	1.3	27.5	6.5	35.0	8.2
6	390.0	86.6	456.0	95.2	670.0	159.7	750.0	176.4
9	1,200.0	266.6	1,100.0	208.3	1,700.0	380.9	1,600.0	353.0

結果は第23表及び第12図で、対照は加熱しない生乳のことである。75°Cではこの抑制力は殆んど消失し、50°C処理では影響はなかった。この場合でも6時間が抑制力の限界であった。この点 AUCLAIR は⁸⁾ Lactenin I は68°C 20分で90%、Lactenin II は74°Cで20分で98%消失すると云い、MORRIS⁸¹⁾は55°C 1時間半で不活性化すると報告しているが、本作用は耐熱性は弱く思考する。

D. 抗酸化剤添加の影響

本作用が37°Cで約6時間経つと殆んど消失するが、この作用物質が後述の実験により蛋白体であるならば、その作用不活性化は先ず蛋白変性を意味すると考えた。そして蛋白変性で最も簡単な酸化的変性について追求した。ただし、この作用が長期に持続出来るならば応用利用面に資すること極めて大きいと考えたからである。

イ. 実験方法

酸化還元に関係あると思われるブドー糖、チオ硫酸ソーダ、システイン、アスコルビン酸等を生乳100ccに

20mgの割合で添加し、他に比較の為蛋白の抗変性剤と報告¹⁾されている0.01Mカプリル酸ソーダ⁷²⁾、0.04Mラウリル酸ソーダ²⁸⁾を用いた。

ロ 実験結果

結果は第24表の如くであるが、細菌に直接影響がなく、しかも Staphylococcus aureus の発育抑制に効果があがったのはカプリル酸ソーダであった。その他は対照に比べて効果は認められたが、試薬そのものが示す抑制作用もその中に含まれている。

第24表 各試薬添加の影響 (生菌数増加率)

No.1 アスコルビン酸

	4時	5時
対 照	45倍	110
脱 脂 乳	7	48
脱脂乳+アスコル	16	25
アスコルビン酸	27	29

No. 2 チオ硫酸ソーダとブドー糖

	4 時	5 時
対 照	29.4	141
脱 脂 乳	19.2	75
脱 脂 乳 + チ オ 硫	9.3	76
チ オ 硫 酸 ソーダ	20.0	108
脱 + ブ ド - 糖	10.8	91
ブ ド - 糖	21.2	173

No. 3 システインとカプリル酸ソーダ

	4 時	5 時
対 照	17.0	76.0
脱 脂 乳	10.0	31.0
脱 脂 乳 + シ ス テ イ ン	0.9	2.3
シ ス テ イ ン	3.5	24.0
脱 + カ プ リ ル	1.0	2.5
カ プ リ ル 酸 ソーダ	15.0	71.0

No. 4 ラウリル酸ソーダ

	4 時	5 時
対 照	7.6	70
脱 脂 乳	0.9	12
脱 脂 乳 + ラ ウ リ ル	1.4	15
ラ ウ リ ル 酸 ソーダ	3.1	9

E. 超遠心分離による細菌発育抑制作用の分割

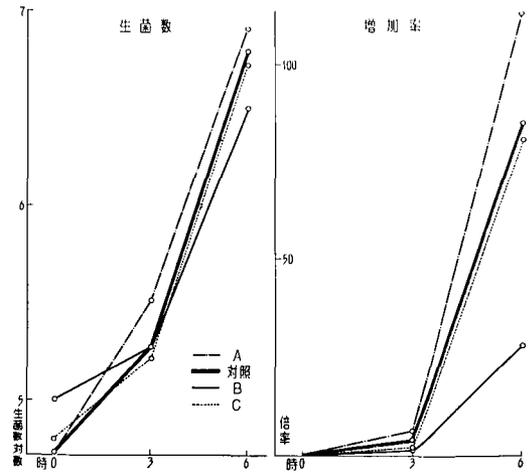
BERRIDGE¹²⁾ は本作用をもつ Lactenin I, II を分離したと報告しているが未だ明確ではない。本作用を追究し分離することは Subclinical Mastitis 乳の防止の上からも、又衛生面、製造面に極めて有意義と信じ、分離を最終目的として以下本作用を各段階に分けて追究を行なった。

イ. 実験方法

供試乳を直ちに脱脂し之を滅菌した SHARPLES-BOWL に入れ、45,000 r.p.m. で 10 分間回転を行なった。尚この際加温の影響を防ぐためフロン冷却を行なった。この沈澱物 1 gr を滅菌蒸溜水で 10 倍稀釈した液 (A), 遠心分離上澄液 (B), (B) を PASTEUR chamberland L₃ で濾過した液 (C) を作製し、各液を前と同様の方法で細菌発育抑制作用を調べた。

ロ. 実験結果

結果は第 25 表、及び第 13 図の如くである。なお対照は滅菌脱脂乳のみの場合である。(A) には Staphylococcus aureus の発育抑制作用はなく、(B) に強く (C) に弱かった。遊佐¹³⁶⁾によれば、45,000 r.p.m. で脱脂乳中の窒素の 65% 位が落ちることから、それは大半カゼインと考えられ、従って本作用はカゼイン及びカゼインに強く結合しているものの中に無いことを示す。本作用物質が chamberland L₃ filter を通過するか否かについて定説はないが^{42,55)}、本実験結果によれば通過しないものの中に多いといえよう。



第 13 図 超遠心分離分割区分の細菌増加率線

第 25 表 超遠心分離区分の発育状態

培養時間	A		B		C		対 照	
	細菌数 (1000)	増加率	細菌数 (1000)	増加率	細菌数 (1000)	増加率	細菌数 (1000)	増加率
0	49	1	115	1	63	1	59	1
3	305	6.2	187	1.3	162	2.5	185	3.1
6	6,780	136.8	3,580	30.4	5,310	84.3	5,400	91.5
9	65,125	1,321.7	36,675	318.9	54,890	871.2	58,830	997.1

F. 酸ホエーの細菌発育抑制作用

上記の実験によりカゼイン部分に本作用がないことが認められたので、pH 4.6 のカゼインを除去した酸ホエー中に細菌発育抑制が存するか否かを検討した。

イ. 実験方法

生脱脂乳に稀塩酸を滴加し、pH 4.6 で沈澱したカゼインを濾別し、濾液を稀苛性ソーダで pH 7.0 として前同様実験を行なった。

ロ. 実験結果

実験結果は第 26 表、及び第 14 図の如くである。供試酸ホエー中に明らかに Staphylococcus aureus の発育に対する抑制作用が認められる。すなわち、pH 7.0 から pH 4.6 の変化にはこの作用が持続されることを示している。

G. 細菌発育抑制作用に与える透析の影響

細菌発育抑制物質は semipermeable membrane を通過しないという報告^{53,54,56,57)}があるが、以後の実験上必須の実験過程なのでその影響を検討した。

イ. 実験方法

透析にはセロファン膜を用いた。供試液は酸ホエーを

使用した。透析は 15°C で 5 時間水道流水で透析した場合と、蒸溜水で 4°C で 2 時間毎に外液を更新しながら 10 時間透析した場合に分けた。

ロ. 実験結果

第 27, 28 第表及び第 15, 16 図の如くである。流水で 5~6 時間の透析は発育抑制作用に影響はなかった。しかし蒸溜水の場合作用が弱まっている。前者の実験で本作用物質がセロファン膜を通過しないと考えられるので、後者の場合は塩類の影響のためと考えられる。

(2) 要 約

1. 牛乳には明らかに Staphylococcus aureus に対する発育抑制作用が存在した。
2. この発育抑制作用は 37°C で約 6 時間持続し、75°C 15 分で殆んど消失した。

第 27 表 透析 (流水) の影響

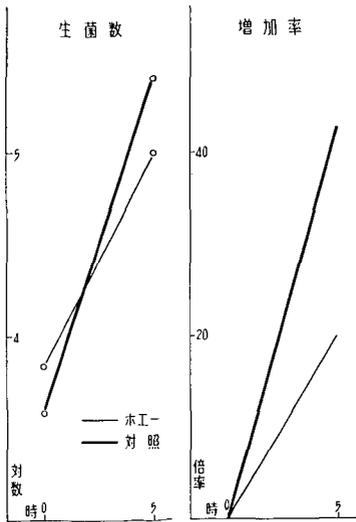
培養時間	対 照		ホ エ ー		透 析 液	
	生菌数 (1000)	増加率	生菌数 (1000)	増加率	生菌数 (1000)	増加率
0	9.5	1	9.5	1	8.5	1
5	400.0	42.1	185.0	19.5	165.0	19.4

第 28 表 透析 (蒸溜水) の影響

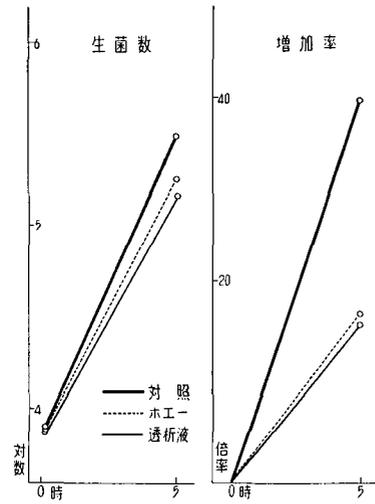
培養時間	対 照		脱 脂 乳		ホ エ ー		透 析 液	
	生菌数 (1000)	増加率	生菌数 (1000)	増加率	生菌数 (1000)	増加率	生菌数 (1000)	増加率
0	3.4	1	4.3	1	3.5	1	5.2	1
4	136.0	40.0	24.5	5.6	20.0	5.7	45.0	8.6

第 26 表 酸ホエー中の発育状態

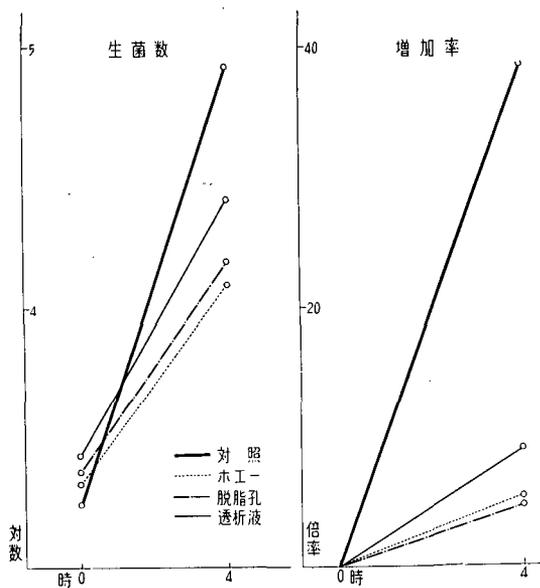
時間	対 照		ホ エ ー	
	生菌数 (1000)	増加率	生菌数 (1000)	増加率
0	5.3	1	6.5	1
5	230.4	43.4	100.0	15.3



第 14 図 ホエーの細菌増加曲線



第 15 図 流水透析の影響による増加曲線



第16図 蒸溜水透析による増加曲線

3. 又この発育抑制作用は45,000 r.p.m. 超遠心分離カゼイン液中には殆んどなく PASTEUR chamberland L₃ 通過液中には弱かった。

4. この発育抑制作用は15°C 5~6時間の流水による透析には影響されなかったが、10時間蒸溜水の透析では影響があった。

5. 牛乳にシスチン、アスコルビン酸、チオ硫酸ソーダ、グルコース、及びカプリル酸ソーダ、ラウリル酸ソーダを添加したがこの発育抑制作用の強化に効果が認められたのはカプリル酸ソーダだけであった。

6. この発育抑制作用は pH 4.6 でカゼインを除去したホエー中に持続することができた。

VIII. Subclinical Mastitis 乳より分離した Staphylococcus aureus に対する初乳の発育抑制作用について

初乳は育児に重要な機能を有するグロブリンを多量に含んでいるので、この種抑制作用も含有することが想像される。AUCLAIR 等⁷⁾は細菌発育物質を Lactenin I, II と名付け、前者が初乳に多いことを報告している。筆者は生乳と平行して本作用を初乳について追究した。

(1) 実験の部

A. 初乳の細菌発育抑制作用

先ず初乳中に本作用が在るや否やを追究した。

1. 実験方法

供試乳は北大附属農場ホルスタイン牛の分娩後10時

間以内の初乳を用いた。細菌発育抑制作用の実験方法は第7章と全く同じである。

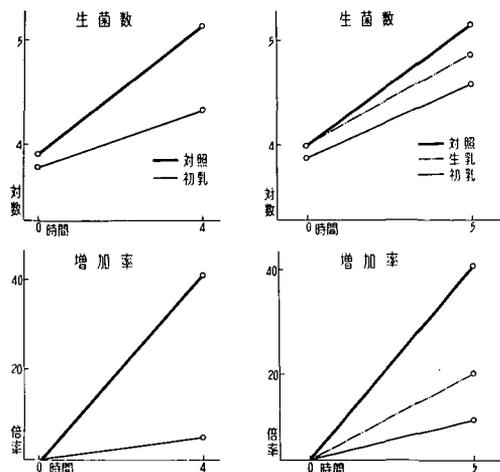
ロ. 実験結果

結果は第29表及び第17図の如くである。第7章の実験と比較して、初乳には極めて Staphylococcus aureus に対する発育抑制作用の強いことが分つた。

第29表 初乳における Sta. aureus の発育状態

培養時間	対 照		初 乳	
	生菌数 (1000)	増加率	生菌数 (1000)	増加率
0	5.3	1	3.5	1
4	210.0	39.6	15.0	4.6

培養時間	対 照		初 乳		生 乳	
	生菌数 (1000)	増加率	生菌数 (1000)	増加率	生菌数 (1000)	増加率
0	9.5	1	8.5	1	9.5	1
5	400.0	42.1	55.0	6.5	180.0	18.8



第17図 初乳における増加曲線

B. 酒精による初乳分割物の細菌発育抑制作用

初乳ホエー中には極めて多数の蛋白が混在し^{3,4)}、免疫作用¹¹⁹⁾、酵素作用⁹⁷⁾等重要な生化学的意義をもっている。実験 A において本作用が極めて強いことを知ったので、本作用物質追究に当然初乳ホエーが対照にならなければならないと考え、初乳ホエーを用い、防腐、防変性に利点のあるエチルアルコール分割^{20,21)}で本作用を追究した。

1. 実験方法

初乳を3倍稀釈し、pH 4.6の酸ホエーを作成して濾

別、之に0~3°Cでエタノールを5,10,15,20,25% (V/V)の濃度になる様に添加し一夜放置する。沈澱をとり5時間流水で透析後 pH 7.6, 0.05 M 磷酸緩衝液にとかして1% 溶液となし、濾別して後濾液を前同様の方法で細菌発育抑制作用を調べた。

ロ. 実験結果

実験結果は第30, 31表, 第18, 19図の如くで、又特に15,20%区分のみを行なった結果は第32表, 第20図の如くである。この結果より15, 20%区分に Staphylococcus aureus に対する発育抑制作用が強かった。又本実験は試料採取後、直ちにエタノール分割して後3~4日経過したものを供試したが抑制作用が持続されている。

第30表 初乳酒精分割物の細菌発育抑制作用

酒精濃度 (%)	生菌数 (1000)			増加率		
	培 養 時 間					
	0	4	5	0	4	5
5	7.4	66	310	1	8.9	41.8
10	7.3	63	400	1	8.6	54.8
15	7.3	28	85	1	3.8	11.6
20	9.9	54	200	1	5.4	20.2
25	7.2	64	320	1	8.8	44.4
対 照	6.3	83	370	1	13.1	58.7

第31表 初乳分割の細菌発育抑制作用

酒精濃度 (%)	生菌数 (1000)			増加率		
	培 養 時 間					
	0	3	5	0	3	5
対 照	7.5	52	340	1	6.9	45.3
5	7.8	22	200	1	2.8	25.6
10	7.8	28	250	1	3.5	32.0
15	7.3	18	150	1	2.4	20.5
20	7.0	21	80	1	3.0	11.4
30	7.7	38	280	1	4.9	36.3

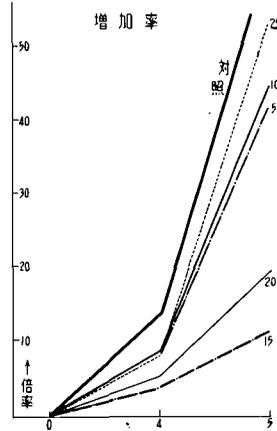
第32表 15,20% 区分の細菌発育抑制作用

酒精濃度 (%)	生菌数 (1000)			増加率		
	培 養 時 間					
	0	3	5	0	3	5
対 照	2.3	28.6	286	1	12.4	124.3
15	2.3	8.0	105	1	3.4	45.6
20	2.4	9.4	57	1	3.9	23.7

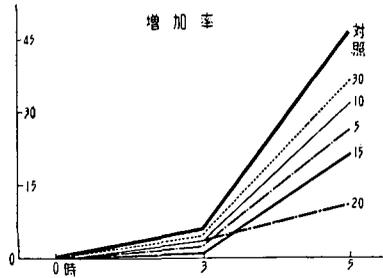
ことが認められ、エチルアルコール処置が本作用分離に比較的有効であると思われる。

C. Zone-electrophoresis による分割

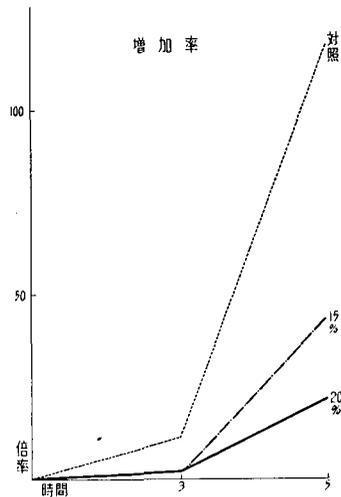
15, 20% 区分を Zone-electrophoresis で分割を試みた。



第18図 酒精分割物の細菌発育抑制作用



第19図 酒精分割物分の細菌発育抑制作用



第20図 15, 20% 区分の細菌発育抑制作用

イ. 実験方法

上記区分を各々5% 燐酸緩衝液にとかし、澱粉カラムで電気泳動を行なった。すなわち市販澱粉を稀アルカリで24時間洗滌後、1週間流水で洗滌、この一部をとり37°Cで乾燥、粉状に砕く。この澱粉50gに試料20ccを混じ、よく混合させる。つぎに先述の澱粉を前記燐酸緩衝液で24時間浸漬して泳動用カラムにつめ、その中央は先の試料混合澱粉を入れる。かくして20mA、150V、24時間、4°Cで電気泳動を行なった。泳動後、澱粉を1cm幅に採取し、燐酸緩衝液で抽出、抽出液1ccをFOLIN試薬で呈色を行なった。FOLIN呈色方法は第3章実験Dと同様である。

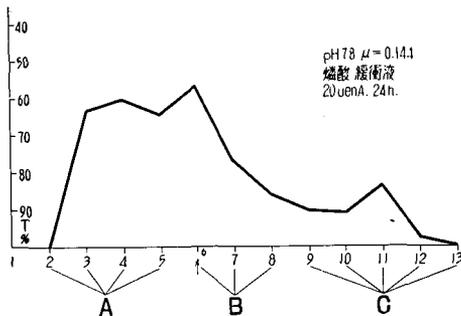
ロ. 実験結果

呈色曲線の結果は第21, 22図の如くである。図中↑印は試料挿入カ所を示す。

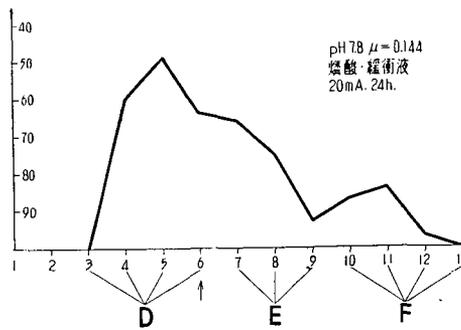
3個の峯が見られ本法により15%区分及び20%区分の各々を更に分割し得ることが判明した。

D. Zone-electrophoresis 分割物の細菌発育抑制作用

実験Cによって分割し得たので分割物の抽出液について細菌発育抑制作用を調べた。すなわち各分割液2ccを次の各区分別に混合して供試した。区分は第21, 22図に示す如く15%分割はA, B, C区に、20%分割はD,



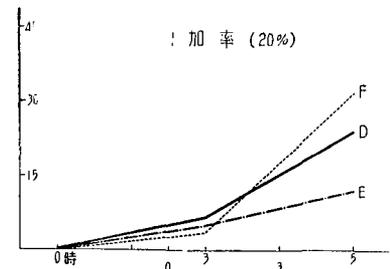
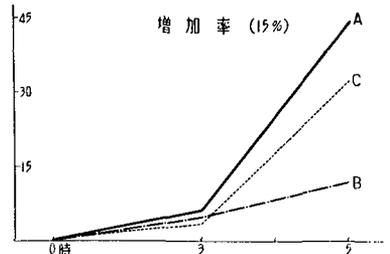
第21図 15% 酒精分割物の Zone-electrophoresis



第22図 20% の Zone-electrophoresis

第33表 Zone electrophoresis による分割

分割区分	生菌数			増加率			
	培養時間						
	0	3	5	0	3	5	
15%	A	2.05	8.3	95.2	1	4.7	47.6
	B	2.10	6.2	40.0	1	2.9	19.0
	C	2.20	5.0	75.0	1	2.2	34.1
20%	D	2.15	9.2	55.0	1	4.3	25.5
	E	3.00	10.1	35.0	1	3.3	11.6
	F	2.40	4.5	78.0	1	1.9	32.5



第23図 15, 20% Zone-electrophoresis 分割の細菌発育抑制作用

E, F の各区に分けた、

イ. 実験方法

細菌発育抑制作用の試験方法は前同様である。なお供試液と滅菌脱脂乳の比を1:4とした。

ロ. 実験結果

実験結果は第33表、及び第23図の如くである。15, 20%とも中央の区分すなわちB, Eの部分に細菌発育抑制作用が強い。然しC, Fの部分は3時間迄はかなり抑制力を示すが以後急速に消失している。BとE, CとFは電気泳動峰が異なるので之等を各々異蛋白とすれば第33表の如くBとE, CとFの二つの性質の異った抑制物質が存在することとなり興味深い。

E. Trypsin 消化に与える酒精分割物の影響

初乳中にいわゆる Trypsin inhibitor⁶⁵⁾ が存在すると

云われるが、上記各酒精分割物についてこの性状を調べ細菌発育抑制物質との関連性を追求した。

イ. 実験方法

実験 C の各分割物の 2% 液を作り、之をカゼイン液 (pH 7.4 磷酸緩衝液の 2% 液) に 1 対 10 の割に添加、第 4 章実験 C と同じ方法で Trypsin 消化を FOLIN 試薬で検討した。

ロ. 実験結果

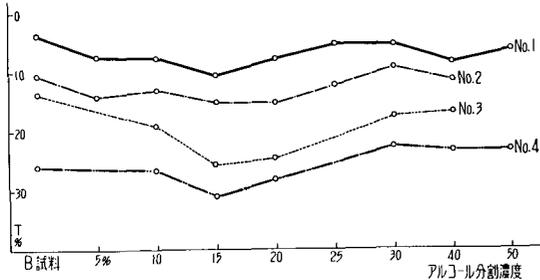
第 24 図はカゼイン+試料+Trypsin

第 25 図はカゼイン+試料+Trypsin

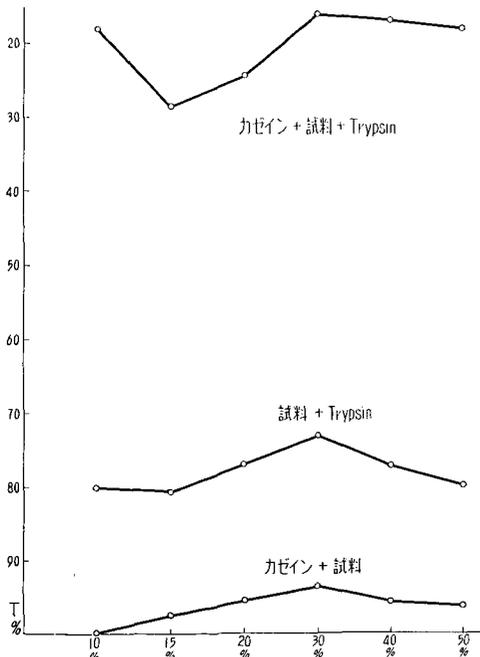
試料+Trypsin

カゼイン+試料

の実験をした。尚 (B) は試料を溶解した磷酸緩衝液のみを現わす。この実験結果から 15% 区分、20% 区分の細



第 24 図 酒精分割物の Trypsin に与える影響



第 25 図 分割物と Trypsin 消化

菌発育抑制作用と Trypsin inhibitor の間に関係がないことが認められた。

F. Rennet clotting に与える酒精分割物の影響

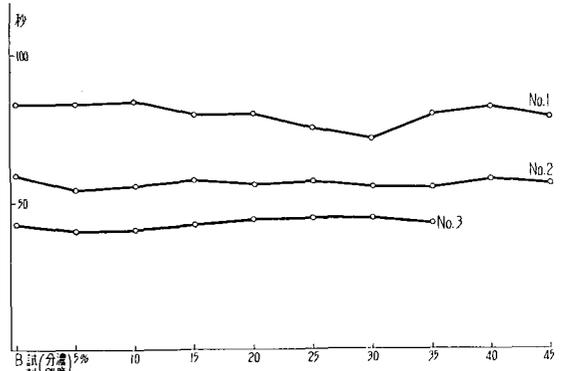
血清中に Rennet clotting 抑制作用^{75,95,126)}が存在すると云われるが、初乳には当然移行されることも考えられるので、前記の沈澱物の作用との関連性の有無を追究した。

イ. 実験方法

各酒精分割物の 1% 溶液を次の如く添加した。生乳 10 cc+試料 1 cc+Rennet 液 1 cc 凝固試験は第 4 章実験 B と同じである。

ロ. 実験結果

結果は第 26 図の如くである。この結果より酒精分割物が Rennet clotting に影響するとは思われない。従っ



第 26 図 酒精分割物の Rennet clotting に与える影響

て酒精分割物の細菌発育抑制作用と Rennet clotting 抑制作用とは無関係であると思考する。

(2) 要約

1. 初乳には Staphylococcus aureus に対する発育抑制作用が強かった。
2. 初乳ホエーより、エタノールで発育抑制物質を分割することが可能で、Zone-electrophoresis により 2 種の細菌発育抑制作用区分に分け得られた。
3. この発育抑制作用と Trypsin inhibitor 及び Rennet clotting inhibitor とは関係は殆んど無かった。

IX. Staphylococcus aureus に対する Subclinical Mastitis 乳 (Staphylococcus 型を除く) の発育抑制作用について

Staphylococcus aureus に対して生乳及び初乳に発育抑制作用が存在することを認めたが Subclinical Mastitis

乳について本作用を調べることはその性状を知る上にも又発育抑制作用物質の追究の上にも有意義と考え、本実験を企図した。

(1) 実験方法

Streptococcus 型、及び Micrococcus 型の Subclinical Mastitis 乳を選出し、第7、8章と同様の方法で Staphylococcus aureus に対する発育抑制作用を調べた。

(2) 実験結果

結果は第34表及び第35表、第27、28図の如くで、試料中に検出された起炎菌種は第36表の通りである。

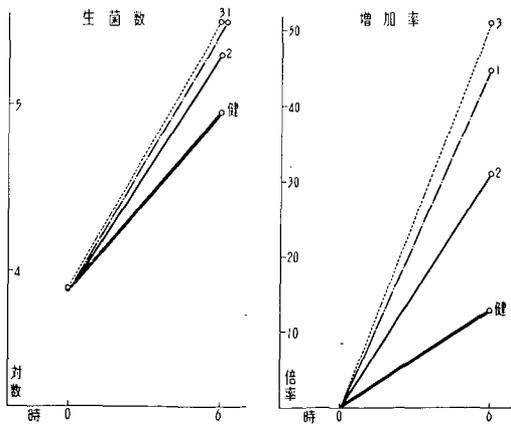
いずれも健康牛の生乳に比較して、Staphylococcus aureus に対する発育抑制作用は弱かった。HIRSCH⁹⁾は健康牛と乳房炎牛の乳汁中には Lactenin に差がないと報告しているが、何故本実験の場合発育抑制作用が弱か

第34表 Subclinical Mastitis 乳の Staphylococcus aureus に対する発育抑制作用

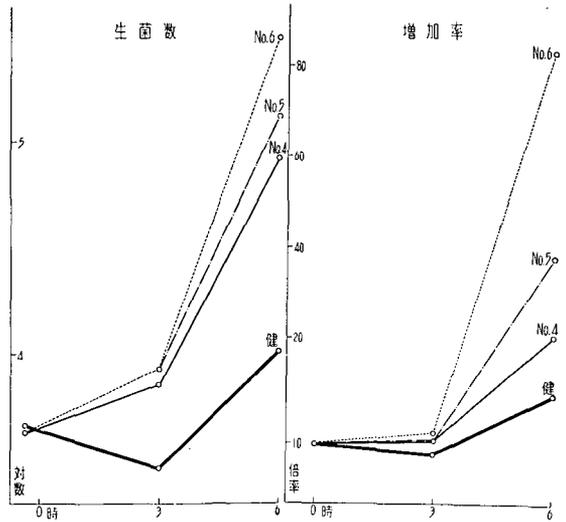
培養時間	No. 1		No. 2		No. 3		健康牛	
	生菌数(1000)	増加率	生菌数(1000)	増加率	生菌数(1000)	増加率	生菌数(1000)	増加率
0	8.1	1	8.2	1	7.7	1	8.0	1
6	370.0	45.6	260.0	31.6	390.0	50.6	110.0	13.7

第35表 Subclinical Mastitis 乳における抑制作用

培養時間	No. 4		No. 5		No. 6		健康牛	
	生菌数(1000)	増加率	生菌数(1000)	増加率	生菌数(1000)	増加率	生菌数(1000)	増加率
0	3.9	1	4.1	1	4.3	1	4.4	1
3	7.0	1.8	7.0	1.7	8.6	2.0	3.0	0.7
6	80.0	20.5	140.0	34.2	320.0	74.5	45.0	10.1



第27図 Subclinical Mastitis 乳中の増加曲線



第28図 Subclinical Mastitis 乳中の増加曲線

第36表 試料の菌種

No.	菌種
1	Micrococcus
2	Micrococcus
3	Corynebacterium
4	Streptococcus
5	Micrococcus
6	Strepto.+Micro.

ったかについては更に深い研究に期待したい。

(3) 要約

1. Subclinical Mastitis 乳 (Staphylococcus の検出された乳を除く) は健康牛乳より Staphylococcus aureus に対する発育抑制作用は弱かった。

文献

- 1) 荒野真平: 蛋白質化学. 2, 580 (1953).
- 2) 有馬俊六郎: 日本畜産学会報. 28, 6 (1958).
- 3) ———: " 26, 2 (1956).
- 4) ———: 日本畜産学会講演要旨. (1956).
- 5) 有馬俊六郎・三河勝彦: 日本畜産学会北海道支部会学講演要旨. (1956).
- 6) 有馬俊六郎・手島良治: 日本畜産学会講演要旨. (1959).
- 7) AUCLAIR, J. E.: J. Dairy Res. 20, 370 (1953).
- 8) ———: " 21, 323 (1954).
- 9) AUCLAIR, J. E. & HIRSCH, A.: " 20, 45 (1953).

- 10) AYERS, S. H. & MODGE, C. S.: J. Inf. Dis. 31, 40 (1922).
- 11) BERGEMA: Jahr. Milchwissenschaft 1, 1 (1919).
- 12) BERRIDGE, N. J.: Biochem. et. Biophys. Acta. 10, 196 (1953).
- 13) ———: J. Sci. Food, Agr. 6, 67 (1955).
- 14) ———: J. Dairy Res. 23, 336 (1956).
- 15) BLACKBURN, P. S.: J. Dairy Res. 22, 37 (1955).
- 16) ———: " 23, 225 (1956).
- 17) ———: " 23, 884 (1956).
- 18) CARR, C. W.: Arch. Biochem. Biophys. 46, 417 (1953).
- 19) CHRZASZZOZ, T. & GORALOWNA, C.: Biochem. Z. 166, 172 (1952).
- 20) CONE, E. J.: J. Am. Chem. Soc. 62, 3396 (1940).
- 21) ———: " 72, 465 (1950).
- 22) COOPER, M. B. & MCWEEN, W. T.: Vet. Record 59, 655 (1947).
- 23) DAVIS, J. C.: Milk Testing 194 (1951).
- 24) ———: Dairy Chemistry 417 (1953).
- 25) ———: Dairy Dictionary 659 (1955).
- 26) DEMUTH, F.: Biochem. J. 159, 415 (1925).
- 27) DORNER, W.: Agr. Exp. Sta. Tech. Bull. 165 (1930).
- 28) DUGGAN, E. L.: J. Biochem. 172, 205 (1948).
- 29) EASTERBROOK, H. L. & PLASTRIDGE, W. N.: Vet. Record 50, 144 (1955).
- 30) ———: " 128, 502 (1956).
- 31) EVANS, A. C.: J. Inf. Dis. 8, 437 (1916).
- 32) FOESTER, W.: Dairy Microbiology 214 (1955).
- 33) FOKKER, A. P.: Fortsch. Med. 8, 7 (1890).
- 34) FOLIN, O.: J. Biol. Chem. 73, 629 (1927).
- 35) FOLLEY & GREENBAUM: Biochem. J. 41, 261 (1947).
- 36) FOOT & SHATTOCK: J. Dairy Res. 9, 166 (1938).
- 37) GRARAM, W. R. & KAY, A. D.: J. Dairy Res. 5, 54 (1933).
- 38) GUITTONNEAU, G. & CHEVALIER, R.: Compt. 218, 1006 (1944).
- 39) HAABS, W. & SMITH, L. M.: J. Dairy Sci. 39, 1644 (1956).
- 40) 荻原丈二: 酵素研究法. 2, 240 (1953).
- 41) HALVERSEN, W. V. & HANSEN, H. C.: J. Dairy Sci. 17, 295 (1934).
- 42) HAMMER, W.: Dairy Bacteriology 192 (1948).
- 43) 橋本吉雄・有馬俊六郎: 日本畜産学会講演要旨. (1959).
- 44) HERREID, E. O.: J. Dairy Sci. 35, 272 (1952).
- 45) HIPPE, N. J. & MCMEEKIN, T. L.: J. Dairy Sci. 35, 272 (1952).
- 46) 平戸勝七・中川雅郎: 日本獣医師会雑誌. 9, 159 (1952).
- 47) 北海道乳質改善協議会: 乳房炎防除法. (1956).
- 48) 北海道酪農検査所: 道内原料乳調査成績. (1958).
- 49) HUCKER, G. J.: Agr. Exp. Tech. Bull. 100 (1924).
- 50) HUGHES, D. L. & CHRISTIE, G. J.: Vet. Record 62, 11 (1950).
- 51) 今堀和友: 蛋白質化学. 4, 15 (1952).
- 52) JACQUET, T. & SAINGT, O.: Compt. rend. Soc. Biol. Paris 146, 1515 (1952).
- 53) JONES, F. S.: J. Exptl. Med. 45, 319 (1927).
- 54) ———: " 47, 965 (1928).
- 55) ———: " 48, 877 (1928).
- 56) ———: " 50, 279 (1929).
- 57) ———: " 51, 327 (1930).
- 58) KAY, H. D. & ASCHAFFENBURG, R.: Proc. 12th Intern. Dairy Cong. (1949).
- 59) KAVOS, E.: Z. Physiol. Chem. 226, 32 (1934).
- 60) KLOTZ, I. M.: J. Am. Chem. Soc. 71, 1957 (1949).
- 61) ———: " 68, 48 (1946).
- 62) KOESTLER & ELSER: Landw. Jahrl. Schweiz. 36, 133 (1922).
- 63) 小山 進: 日本農芸化学会誌. 33, 635 (1959).
- 64) KRERRN: Z. Angew. Chem. 45, 171 (1935).
- 65) LASKOWSKI, M.: J. Biol. Chem. 198, 745 (1942).
- 66) LINDERSTROM, L.: Lab. Carabery 17, 9 (1929).
- 67) LING, E. R.: Dairy Chemistry 110 (1956).
- 68) LITTLE, R. B.: Cornell Vet. 27, 297 (1937).
- 69) ———: " 27, 309 (1937).
- 70) ———: " 28, 23 (1938).
- 71) LONGSWORTH, L. G.: Phys. & Collid Chem. 53, 126 (1946).
- 72) LUCK, J. M.: Colloid Chem. 51, 229 (1947).
- 73) LUNDSTEEN, E.: Biochem. Z. 295, 191 (1938).
- 74) 前野正久: 寒地農学. 3, 2 (1948).
- 75) ———: 日本畜産学会報. 20, 21 (1949).
- 76) ———: 畜産の研究. 9, 825. 1029. 1143. 1259 (1955).
- 77) ———: 牛乳乳造品のハンドブック. (1958).
- 78) ———: 日本畜産学会講演要旨. (1959).
- 79) MCMEEKIN, T. L.: J. Am. Chem. Soc. 71, 253 (1950).
- 80) MORRIS, C. S.: J. Dairy Res. 13, 115 (1942).
- 81) ———: " 17, 253 (1950).
- 82) MURPHY, M. M.: Cornell Vet. 31, 47 (1941).
- 83) ———: " 32, 439 (1942).
- 84) ———: " 43, 290 (1953).
- 85) ———: " 43, 465 (1953).
- 86) ———: J. Dairy Sci. 39, 1769 (1956).

- 87) 長沢太郎: 畜産の研究. 11, 364 (1957).
 88) 長沢太郎・棚橋保: 日本畜産学会報. 27, 4 (1957).
 89) 中川一郎: 栄養実験書. 483 (1955).
 90) NAKAGAWA, M.: Jap. J. Vet. Res. 6, 19 (1958).
 91) 中西武雄: 畜産の研究. 10, 1129 (1956).
 92) 日本乳業技術協会: 技術資料. 8, 61 (1959).
 93) 近藤竜也: 日本薬局法註解. 910 (1945).
 94) NORTON, R. K.: Biochem. J. 55, 786 (1953).
 95) ————: " 57, 595 (1955).
 96) 越智勇一・勝部泰治: 日本獣医学雑誌. 20, 38 (1958).
 97) ORCUTT, M. L.: J. Exp. Med. 36, 291 (1922).
 98) PARTIDGE, S. M.: Biochem. J. 42, 238 (1948).
 99) ————: Nature 164, 443 (1949).
 100) PATTISSON, I. H. & HOLMAN, H. M.: J. Comr. Pathol. Therap. 6126 (1951).
 101) PLASTRIDGE, W. N.: Advances in Vet. Sci. 1 (1953).
 102) ————: Agr. Expt. Sta. Pro. Rept. 14 (1956).
 103) ————: J. Dairy Sci. 41, 1141 (1958).
 104) PROUTY, C. C.: J. Dairy Sci. 17, 78 (1934).
 105) PYNE, G. M.: Dairy Sci. Abs. 17, 7 (1955).
 106) ROWLAND & ZEIN, E. D.: J. Dairy Res. 5, 47 (1938).
 107) 鯨島夷三郎: 膠質学. 428 (1938).
 108) ————: 物理化学実験書. (1956).
 109) SANDARDS, G. P. & SAGER, O. S.: J. Dairy Sci. 30, 909 (1947).
 110) 佐々木林治郎・栗飯原景照: 日本農芸化学会誌. 11, 865 (1955).
 111) 佐々木林治郎・津郷友吉: 乳の化学. 76 (1957).
 112) SCHALM, O. W. & GRAY, D. M.: North Ame. Vet. 36, 1011 (1955).
 113) 志賀勝治: 日本畜産学会報. 24, 4 (1953).
 114) 志賀直: 生化学実習. 34 (1956).
 115) ————: " 198 (1956).
 116) 清水亀平次: 日本獣医学雑誌. 4, 108 (1951).
 117) SIMMON, J. & RADIOVOJEVIC, T.: J. Am. Vet. Med. Assoc. 124, 89 (1954).
 118) SLANETZ, L. W. & ALLEN, F. E.: J. Am. Vet. Med. Assoc. 107, 18 (1945).
 119) SMITH, T.: J. Exp. Med. 36, 181 (1922).
 120) SNEDECOR, G. W.: Statistical Method 146 (1954).
 121) STORRS, A. B. & HULL, M. E.: J. Dairy Sci. 39, 1097 (1956).
 122) TERESI, J. D.: J. Biochem. 174, 653 (1948).
 123) 鳥井秀一・金沢純: 日本農芸化学会誌. 28, 34 (1954).
 124) TAYLER: J. Proc. Roy. Soc. 47, 174 (1913).
 125) 津郷友吉: 日本農芸化学会誌. 29, 292 (1955).
 126) ————: " 29, 457 (1955).
 127) RUCKER, E. W.: J. Am. Vet. Med. Assoc. 124, 122 (1954).
 128) ————: " 123, 332 (1953).
 129) 宇野利雄: 統計学. 41 (1953).
 130) URBACH, C.: Biochem. Z. 223, 169 (1934).
 131) HAMMERSTEN, O. & HEDIN, S. G.: Text Book of Physiological Chemistry (1914).
 132) WARNER, R. C.: J. Am. Chem. Soc. 66, 1725 (1944).
 133) ————: " 67, 529 (1945).
 134) WILLSON, C. D.: Vet. Record 64, 525 (1952).
 135) ————: " 67, 645 (1955).
 136) WHITNEY, R. M.: J. Dairy Sci. 10, 1312 (1958).
 137) 遊佐孝五: 日本畜産学会誌. 26, 197 (1956).

Résumé

Physico-Chemical Studies on Subclinical Mastitis Milk

The physico-chemical studies conducted on sub-clinical mastitis milk from various angles have obtained the following findings:

1. As for milk compositions, there was a marked difference between subclinical mastitis milk and normal one in the amount of chlorine, lactose, soluble nitrogens and electric conductivity. Generally, mastitis milk affected by *Streptococcus-ty* peorganism showed a great fluctuation in the leucocyte count.

2. At a penicillin shot external symptoms showed an improvement, but the restoration to normalcy of the milk compositions was slow.

3. Soluble nitrogens, increased with the worsening of the disease. Soluble nitrogen contained nitrogen of decomposed casein by inflammation causing germs, besides nitrogens of whey proteins and other nitrogens.

4. Studies on the activities of catalase, phosphatase, protease, rennin, to which importance is attached in the use of milk enzymes, made it known that the catalase activity increases in parallel to the condition of the disease. It follows, therefore, that milk with a brisk catalase activity may be suspected as subclinical mastitis milk. The phosphatase and protease activities, too, were brisker than those of normal milk. In a renet clotting test a distinct difference was discernible between mastitis milk of a serious case and normal milk, but no such difference was observable in mastitis milk of a slight case.

5. Clinical mastitis milk of a serious case showed a positive reaction to an alcohol test, but subclinical

mastitis milk showed for the most part a negative reaction.

6. In a test to see whether there is any connection between milk compositions and urine compositions in subclinical mastitis milk, a normal (healthy) cow was compared with an ill one pertaining to the urine compositions, but no distinct connection was perceived between the urine compositions and the milk compositions.

7. A study on the germicidal action of milk against staphylococcus aureus isolated from subclinical mastitis milk showed that fresh milk had this action definitely. The action was maintained in skim milk, HCl whey and supernatant ultracentrifugally separated at 45,000 r.p.m. The action was active for 7 hours at 37°C, but was almost inactivated by heating at 75°C for 15 minutes. This action was hardly affected by dialysis with city-water but was affected by dialysis with distilled water. Of the various chemicals added to fresh milk in order to maintain this action as long as possible, sodium-caprylate gave the best result.

8. A test proved that colostrum has stronger germicidal action than fresh milk. When colostrum whey was fractionated by ethanol, precipitates of 15% and 20% concentrates had this action. By further fractionating these fractions by means of zone-electrophoresis with starch, two patterns with different characters were obtained. In these two patterns trypsin inhibitor and rennet clotting inhibitor were not seen.

9. Subclinical mastitis milk from which no staphylo-type organisms were detected, was weaker than fresh milk and colostrum in the germicidal action.

It is considered that the above studies are significant as basic research and helpful in the use of milk and dairy products and also in the fields of sanitation and inspection.

Shunrokuro ARIMA
Faculty of Agriculture,
Hokkaido University