

牛乳の室温と低温における 細菌の消長について

琉球衛生研究所 細菌部

大城孝喜

1. 緒 論

牛乳中には多種多様な非病原性菌が存在するほか、或種の病原性菌が混在していることも稀ではない。その主なものに結核菌、ブルセラ菌、チフス菌及びその他各種病原性微生物等、公衆衛生上注意すべきものが数々ある。且つ、牛乳は多くの細菌にとつて好適な培地となり得るので、適切な衛生措置が講じられない限り、このような菌に原因する伝染病が牛乳を介して起る危険性も決して少なくない。

Pasteur は 100°C 以下の適当な温度でも充分加熱すれば或種細菌を死滅させることが出来ると報じ、熱抵抗性の弱い菌は60°C 10分で死滅し、耐熱性の菌性でも、60°C で充分な時間適当に加熱すれば死滅することは周知の通りである。しかし牛乳殺菌の設備があつてもそれが不完全か、又は殺菌操作が不適當な場合、或いは殺菌後の取扱いが非衛生的であり、又適切な保存が行われない限り、牛乳によつて伝染病が媒介されることは否定出来ない。

市販に供される殆どの食品が食品衛生法で規定されているように牛乳も、その定義、成分規格、保存方法、及び検査方法等の項目が詳細に規定されているが、それは飽く迄その製造業者及び販売業者に関するものであり、各業者が公衆衛生上責任をもつて遵守しなければならないものである。斯くて購買者は安全を保証された牛乳を飲用に供する訳であるが、時に配達乳に見られるように飲用に供する迄に長時間を要するものでは、例え安全を保証された牛乳と雖も、その後適当な保存処置が行われなければ、その腐敗変敗を完全に免れ得るものとは限らない。

普通、食品の腐敗防止に冷却保存方法が用いられているが、この方法は確かに牛乳を含めて各種食品の保存期間を延長し推奨し得るものである。

著者は市販乳を購買後長時間(42時間)放置(29°C)した場合を仮定して、それに含まれる細菌の消長を冷蔵庫保存(2°C)したものと比較研究し些か知見を得たので報告する。

2. 実験方法

(1) 材 料

市販乳を用いた。

(2) 実験方法

同一材料を夫々二分し、一方を29°Cに放置他方を冷蔵庫(2°C)に保存した。

(a) 一般細菌数の測定法

培地は標準寒天培地を使用した。一平板に30~300個の細菌集落が得られるように牛乳を生理食塩水で希釈し、滅菌ピペットで滅菌シャーレ二枚にそれぞれ1mlずつ正確にとりこれに予め加温溶解して48°C~45°Cに保持した標準寒天培地約15mlを加えて混釈し、放置凝固させ、これを倒置して37°C 48時間培養後直にコロニーカウンターで測定した。

(b) 大腸菌群の定量試験

試験開始時から6時間おきに42時間、牛乳を常法に従つて希釈し、それを夫々5本宛のBGLB培地に滅菌ピペットで1ml宛接種し48時間培養し、ガス発生を認めたものを型の通り推定試験陽性とし、更に確定試験及び完全試験を行い、その結果を100ml中のM. P. Nで表した。

(c) 酸度検査法

乳酸表示法を用いた。牛乳中の酸を中和するに要するアルカリ量を測定して、このアルカリで中和された酸の全量を乳酸と仮定して、重量%で示した。

検体10mlをビーカーまたは三角フラスコにとり、炭酸ガスを含まない蒸溜水を等量加えて希釈し、フェノールフタレイン指示薬(1%アルコール溶液)0.5mlを加えて、0.1N水酸化ナトリウム液を用いて滴定した。30秒間微紅色の消失しない点を終末として、次式により乳酸%を求めた。

$$\text{乳酸}\% = \frac{0.1N\text{NaOH滴定量}(ml) \times 0.009}{\text{検体の容量} \times \text{比重}} \times 100$$

3. 実験成績

牛乳の室温と低温における細菌の消長について実験し、次表の成績を得た。

第一表は低温及び室温における牛乳100ml中の大腸菌数である。低温の場合は試験開始時と42時間後に於ける大腸菌数に著明な差はないが29°C(室温)では時間の経過と共に菌数が対数的に増加している。

第二表は低温と室温に於ける牛乳1ml中の一般細菌数を示したもので、大腸菌と同様に低温では著明な変化は認められないが、室温では時間の経過と共に対数的に増加している。

図Iは表I～IIの低温と室温に於ける牛乳中の大腸菌群と一般細菌の増殖を線グラフで示したものである。

図IIは表III及びIVの低温と室温に於ける牛乳の酸度を棒グラフで示したものである。室温では牛乳の酸度は12時間までは著明な変化がないが18時間目から上昇をし、時間の経過と共に増加している。しかし低温に保存した牛乳の酸度は試験開始時と42時間後とに全然変化が認められない。

表II 低温 (2°C) 及び室温 (29°C) に於ける一般細菌数

時間	2°Cに保存した場合	29°Cに放置した場合
0	$10 \times 10^2 / \text{ml}$	$10 \times 10^2 / \text{ml}$
6	29×10^2	88×10^2
12	53×10	17×10^4
18	10×10^2	18×10^6
24	24×10^2	63×10^6
30	50×10	12×10^7
36	10×10^2	32×10^7
42	40×10^2	48×10^7

表I 低温 (2°C) 及び室温 (29°C) に於ける大腸菌群の消長

時間	2°Cに保存した場合 M.P.N.	29°Cに放置した場合 M.P.N.
0	13×10^3	13×10^3
6	85×10^3	13×10^5
12	22×10^3	16×10^7
18	16×10^3	16×10^8
24	13×10^3	16×10^9
30	13×10^3	16×10^{10}
36	13×10^3	16×10^{11}
42	13×10^3	16×10^{12}

図I 一般細菌と大腸菌群の増殖曲線

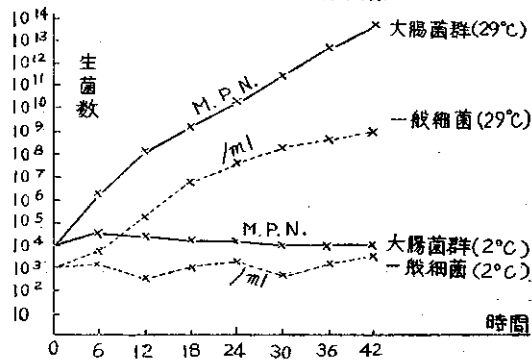
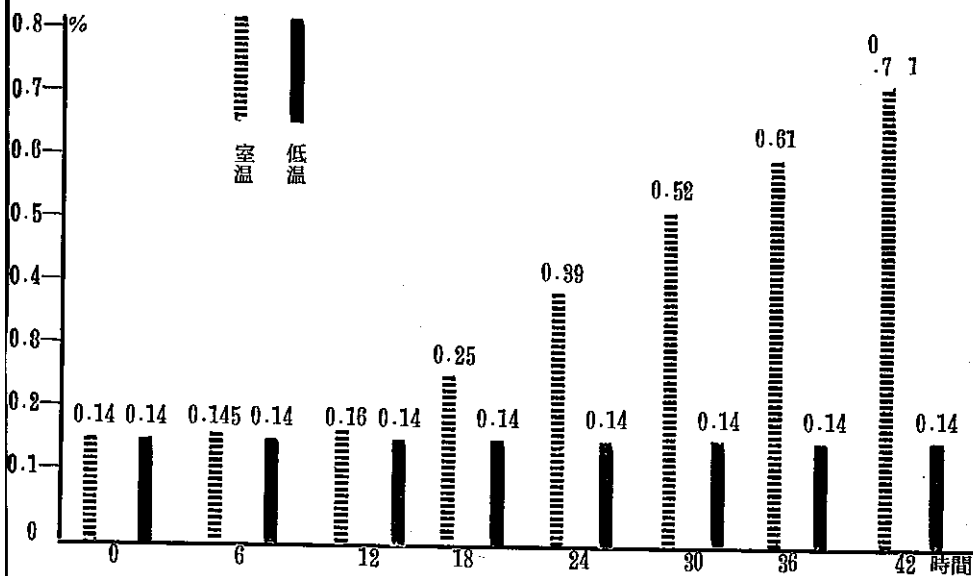


図2 牛乳酸度の比較



考察及び結び

以上の試験成績から次のようなことが得られた。

(1) 室温 (29°C) 及び低温 (2°C) における細菌 (大腸菌、一般細菌) の消長を時間的に測定し、数字で示し

た。一般に牛乳を低温に貯蔵しておけば細菌の繁殖を最小限に抑制し、42時間では殆んど変化がない。しかし室温に放置すると短時間 (6時間以内) に細菌が繁殖し、酸敗を来す。

(2) 低温に貯蔵した場合の牛乳酸度は試験開始時と42時間後では全然変化を認めない、しかし室温に放置しておく試験開始時から12時間までは著明な変化は認められないが18時間目から急に酸度が高くなっており、細菌

の増殖と一致している。

従つて購牛乳は直に飲用に供するか、又は冷蔵すれば二日位では牛乳の酸敗は認められないので冷蔵保存を薦める。

乳酸菌飲料の細菌学的検査成績に就いて

第一報

琉球衛生研究所 細菌部

与那原良夫

1. 緒言

乳酸菌飲料とは乳又は乳製品を乳酸菌又は酵母で醗酵させ、糊状又は液状にしたものを主要原料として、之に水を加えて薄めた飲料の事である⁽¹⁾、日本本土に於いても近年急激に増し、2600数種のものである⁽²⁾（昨年6月厚生省調べ）⁽³⁾市場に出廻り、保健に、美容に、発育にどのキャッチフレーズで愛飲されているが、沖縄に於いても、この例にもれず、最近特に製造販売業者がふえている。本土でも問題になった様に活性菌のいないもの、大腸菌群陽性のもの、又はブドウ球菌に依る中毒例のあつた事が、報告されている⁽⁴⁾。

現在沖縄では当地で培養を行つて、製品を出している所もあるが、大部分は原液（罐入り）を輸入して当地で水を加えて薄め販売している様である。故に之の製造には特に衛生学的な考慮取扱いがなされなければならない。

国立衛生研究所の岩本繁雄氏⁽⁵⁾によれば、乳酸菌飲料の場合には次の様な問題がある。

- 1) 乳酸菌飲料は或る種の細菌に好適な栄養源を含むので、他の雑菌に依つて汚染される危険性がある。
- 2) 醗酵乳と異り水で自由に薄められるから品質の低下のおそれがある。その為乳酸菌の活性を失い、病原細菌がまじる様になれば、公衆衛生上重大な問題である。

現在沖縄で市販されている乳酸菌飲料の衛生学的検査を細菌面から行つたので、之等16例に就いて報告する。

2. 検査方法

(a) 乳酸菌数測定法

各検体の原液、10倍稀釈液、100倍稀釈液及び1000倍稀釈液を1ml宛滅菌ペトリ皿に採り、Tomato Juice Agar, Plate Count Agar, (Trypton Glucose Yeast Extract Agar) 並びに2%の割に炭酸カルシウムを添加した3%ブドウ糖寒天培地（以下白亜寒天と言う）を流し込み混釈し37°C72時間培養を行つた。稀釈

倍数の高いものには各々1%の割に脱脂乳を加えた。

又 Plate Count Agar には都立衛研の春田氏⁽⁶⁾が行つた様に雑菌と乳酸菌を判別する為に0.004%~0.006%の割に B.C.P. を加えた。之は選択培地の性格を持たず為に行つた。この場合乳酸菌は殆ど黄変集落を形成する。

平板培地の種々な集落を釣菌して3%ブドウ糖寒天高層培地に混釈培養し、形態学的及び生物学的性状検査に供した。

(b) 酵母菌の判定

平板の集落を釣菌し塗抹鏡検して形態学的性状を調べ酵母菌の有無を検した。

(c) 大腸菌群試験

原液、10倍稀釈液及び100倍稀釈液の三段階に稀釈し各段階とも1ml宛5本の B.G.L.B 培地に接種し、37°C48時間培養後、ガス発生を認めたものを、E.M.B 培地に移して確定試験を行い、更に完全試験を実施して検体100g中の大腸菌群 M.P.N. を算出した。又併せて Desoxycholate 培地に検体を混釈培養して1ml中の集落数を算定した。

(b) ブドウ球菌の検査法

栄研スタヒロコッカス110培地に検体0.1mlを滴下し、コンラジ棒を用いて塗抹培養し、37°C48時間後ブドウ球菌の有無を検した。

3. 検査成績

表Iの如く鏡検所見では桿菌のみのものが16例中10例、桿菌及び球菌を認めるものが5例、又酵母菌の場合、酵母菌のみのものが1例、桿菌と共に認められるものが3例、桿球菌と酵母菌が認められるものが2例であつた。菌数も1ml当り最低 17×10^6 、最高 33×10^7 とその差が著しい。

又大腸菌群が完全試験で陽性を示したのが4例あるが之は塩洗滌不充分、非衛生的な取り扱いによるものであろう。B.G.L.B. 培地を使用した結果と Desoxychol