

ペニシリン注射後牛乳中に分泌される その含量と乳酸菌との関係

宮 辺 豊 紀・東 義 和

Relation between Penicillin Content in Cow's
Milk and Lactobacilli after Its
Injection

By

Toyoki MIYABE and Yoshikazu HIGASHI
(Laboratory of Animal Product Technology)

1 緒 言

Penicillin は乳牛の乳房炎其他の疾病に広く用いられているが、畜産製造上、Buttermilk, Cottage cheese 其他各種の Cheese や酸乳飲料の製造には乳酸菌を使用するので Penicillin 注射をうけた牛乳中に Penicillin が含有されるとすれば勿論カゼインの凝固を遅延させ又、乳酸生産を妨害する結果となる。

FOLEY 氏⁽¹⁾によると乳房炎に関係のある *Streptococci* や *Staphylococci* に対して Penicillin を用いると効果があると報じている。即ち Penicillin 軟膏を乳牛の乳房に対して 100,000 units 塗布して次の数日後に搾乳された牛乳について試験した結果、Butter や Cheese の Starter に用いる *Streptococci* の乳酸生産を抑制するに充分な濃度含まれていたことが知られている。兼松・相沢氏他⁽²⁾によると Streptomycin と Penicillin 併用の結果、夫々単独の時も菌数、酸度、pH、凝固の点で対照と著しい差があり、特に前者では球菌、後者では大腸菌の繁殖が多いことを認め、⁽³⁾ Cheese 製造の際、牛乳 0.1 unit/ml の Penicillin が存在している時は酸生成を妨害し牛乳の凝固が思わしくない。HUNTER 氏⁽⁴⁾によれば *Streptococci* は Penicillin に鋭敏であると報告している。*Streptococcus Cremoris* は培養基 0.1 unit/ml Penicillin を用いると明かにその発育を妨げられるが、*Streptococcus Lactis* は 0.25~3.0 unit/ml でないと同じ程度の効果は認められなかつた。KAIZNELSON 及び HOOD 氏⁽⁵⁾によると Skimmilk 中に 0.2~0.4 units/ml の範囲に Penicillin を添加すると完全に *Streptococci* を殺菌し得たと報じている。これ等の研究^(2,3,4,5) は Lactic lactobacilli の Penicillin に対する影響とは関係がない。

HACROVE 氏⁽⁶⁾は Swiss cheese starter の *L. B. Bulgaricus* の生育を Penicillin 0.1 unit で抑制し得たと報告を出している。又、KRIENKE 氏⁽⁷⁾の報告によると乳牛の乳房炎に 75,000 国際単位の 1/4量注射して12時間後搾乳した乳 5%及び平常乳95%混合した乳は完全に乳酸菌の発育増殖を阻害し、24時間後の乳15%と平常乳85%を加えた乳は微量の Penicillin が検出され、36時間後は菌増殖極めて低調であることを認め、又 Penicillin 汚染乳汁の熱処理の影響も甚だ微量で乳の酸化を極めて微少な程度に抑制しているので Cheese 其他に使用しない方がよいと忠告している。

本試験では WILKOWSKE 及び KRIENKE 氏⁽⁸⁾の数種の乳酸菌に対する Penicillin 影響並びに KRIENKE 氏⁽⁷⁾の加熱の影響に関する報告もあるが Penicillin 注射後搾乳される牛乳中に分泌される含有量と時間の関係及び牛乳中の Penicillin が加熱処理によつて実際製造上、乳酸菌の繁殖を抑制するや

否やも *L. B. Casei* を用いて再検討してみた。

2 実験の部

1. 水溶性ペニシリン“G”カリウムの *Lactobacillus Casei* に対する乳酸生成の抑制試験

実験に使用した *Lactobacillus Casei* は実験に使用する前に約一週間毎日植え換えてその活度を大ならしめておいた。供試乳は Penicillin 注射や他の Antibacterial agents のないことを確めて後実験を始めた。Penicillin を乳牛に注射する前に Penicillin に対する *Lactobacillus Casei* の影響を試験してみたが、この時の Penicillin は水溶性の Penicillin “G” K 200 000 unit (武田製薬) を使用した。

供試乳は 30 c. c を予め乾熱殺菌した綿栓を施した三角フラスコにとり、コツホ殺菌釜にて 100°C 1 時間、2 日に亘り殺菌した。乳酸菌の接種及び供試乳に対する Penicillin の添加はすべて無菌箱中にて操作した。Penicillin G の溶解は殺菌蒸留水を用い、200,000 unit を用いた。先ず Penicillin G を 1000 c. c に溶解し、この水稀釈 Penicillin “G” 中より供試乳 1c. c に対し、1.0~0.5 units に相当する量だけ Table 1 の如く正確に殺菌ビペットにて吸入添加した。(0.3 unit の時はこの 1000 倍の Penicillin を更に 10 倍したものを使用)

この Penicillin 添加した供試乳に *L. B. casei* の一白金耳を充分に接種しよく振盪して電気孵卵器中にて 30°C に保温し、120 時間経過の滴定酸度を測定した。この実験結果は Table 1 に示した通りである。

第 1 表 *Lactobacillus Casei* の乳酸生成に及ぼすペニシリンの影響

(数字は乳酸%として表わす)

Table 1. Influence of Penicillin on Lactic Acid Development of *Lactobacillus Casei*

(Figures expressed as per cent lactic acid)

ペニシリンの濃度 (単位/c. c) Concentration of Penicillin (units/ml) ※	30°C に保温した時の各時間の滴定酸度 Titratable acidity values at various hours of incubation at 30°C							
	2 (%)	4 (%)	6 (%)	24 (%)	48 (%)	72 (%)	96 (%)	120 (%)
0.0	0.13	0.14	0.14	0.20	0.59	0.89	1.10	1.32
0.3	0.13	0.13	0.14	0.20	0.38	0.61	0.87	0.98
0.6	0.13	0.14	0.14	0.15	0.18	0.28	0.31	0.34
1.0	0.13	0.14	0.14	0.14	0.15	0.17	0.18	0.19
3.0	0.13	0.13	0.13	0.14	0.14	0.14	0.15	0.15
5.0	0.13	0.13	0.13	0.14	0.14	0.14	0.15	0.15

※結晶性ペニシリン“G”を水に稀釈せるもの Aqueous dilution of crystalline penicillin “G”

Lactobacillus casei の酸生産の適温は 30°C であり、牛乳を凝固させる時間は 72~120 時間でその最高生産量は 1.2~2.0 であるが、本試験では 24 時間毎に酸生成の過程を測定してみた。これによると経過時間 6 時間までは余りその差を認められなかつたが、24~48 時間頃から Penicillin の効果が著しく 120 時間では殆んど正確な結果が認められた。即ち 1.0 unit/ml 以上では著しく妨害するが、0.3 unit 以下では余り効果がないようである。0.6 unit では可成り乳酸菌の繁殖を抑制した。

Table 2 は Penicillin を添加した牛乳を加熱した時の Penicillin 力価の破壊度を試験したものである。Penicillin 添加の供試乳の加熱はコツホ殺菌釜にて行つた。先ず殺菌釜を 100°C に上昇させ、その中に供試乳 30c. c を入れた三角フラスコを入れ、2 分間放置して供試乳が完全に 100°C になつてから 5 分、10 分と正確に時間を測定した。100°C 1 分は電熱器の上で直火に実施した。又 80°C、65°C は前記同様にコツホ殺菌釜中で行つたが、供試乳の温度上昇までの放置時間は各々

第2表 牛乳加熱によるペニシリン分解に対する乳酸生成の影響

Table 2. Effect of Lactic Acid Development on Decomposition of Penicillin due to Milk Heating

試料の加熱温度と時間 Heating temp. and its time of samples	30°C, 120時間経過後の乳酸生産量 ペニシリン濃度(単位/c.c.) Lactic-acid production at 30°C up to 120hrs. duration Concentration of Penicillin (units per ml.)				
	0.3 (%)	0.6 (%)	1.0 (%)	3.0 (%)	5.0 (%)
	抑制	Retarded	最も抑制	Most retarded	
min. 100°C	0.94※	—	0.18	0.15	0.15
5	1.02※	0.42	0.18	0.16	0.15
10	1.40	—	1.34	1.34	0.98? } 常乳 Normal
20 min. at 80°C	1.29	—	1.28	1.30	1.31 } 常乳に近し Nearly normal
30	1.30	—	1.30	1.29	1.30 } 常乳に近し Nearly normal
20 min. at 65°C	1.09	—	1.05	0.99	1.05 } 可成り抑制 Considerably retarded
30	1.09	1.01	1.03	1.01	0.98 } 可成り抑制 Considerably retarded

※ Considerably retarded

5~6分, 7~8分間である。これ等は何れも加熱後直ちに冷水にて30°C前後に急冷し, 無菌箱中にて*L. B. Casei*を一白金耳接種した。前記同様に孵卵器中にて30°C120時間保温してN/10NaOHにて滴定酸度を測定した。

これ等の試験結果より100°C1分及び5分の加熱温度ではPenicillin力価の破壊はなく, Table 1の標準に比較して殆んど同じ価が得られた。而し乍ら100°C10分ではその力価は殆んど完全に破壊され, 平常乳と変りないことが認められた。尙80°C20分, 30分でも殆んど平常乳に近く, 65°C20分, 30分では僅かにPenicillinの効力が残存していた。

2. 乳牛に油性プロカイン。ペニシリンを注射後、牛乳中に分泌されるペニシリン含量の推定

ホルスタイン種(体重700kg)の腰部にOily Procaine Penicillin 3,000,000 unitを筋肉注射して80時間経過までの搾乳した牛乳中のPenicillin含有量を*L. B. Casei*によって推定試験を行った。注射後8時間までは2時間毎に、その後は12, 24時間間隔に測定した。但し搾乳は1日に2回搾乳してその中の1回だけ供試した。試験区には無殺菌の生乳と65°C30分、100°C5分の三つを選んだ

第3表 ペニシリン注射後の牛乳中に於るペニシリン含量の推定
(*L. B. Casei*による試験)

Table 3. Conjecture of Penicillin Content in Cow's Milk after Injection of Penicillin
(Test due to *L. B. Casei*)

ペニシリン注射後搾乳 された牛乳の処理(300万/700kg) Treatment of milking cow's milk after penicillin injection (3,000,000 unit/700kgcow)	30°C, 120時間経過後の乳酸生産量 Lactic acid production at 30°C up to 120hrs. duration						
	注射後の搾乳時間 Time of milking after injection						
	4	6	8	24	32	56	80
生乳	酸度 0.83	0.58	0.83	0.88	0.98	1.12	1.38
Non-pasteurized milk	ペニシリン含量 Over 0.3	About 0.5	Over 0.3	Over 0.3	About 0.3	0.0-0.2	0.0
殺菌乳 65°C, 30分	酸度 1.09	1.09		1.15		1.21	1.32
Pasteurized milk 30min. at 65°C	ペニシリン含量 0.1-0.2	0.1-0.2		0.1-0.3		0.0-0.1	0.0
殺菌乳 100°C, 5分	酸度 0.69	0.98		1.05		1.21	1.30
Pasteurized milk 5 min. at 100°C	ペニシリン含量 About 0.4	About 0.3		0.0-0.3	0.0-0.1		0.0
	Acidity	Considerably retarded		Nearly normal			Normal
	Peni. content※	Considerably retarded		Considerably retarded	Nearly normal		Normal

※ 第1.2表と比較した牛乳ペニシリン含量の推定

Conjecture of penicillin content in cow's milk compared with Table 1, 2.

が、生乳中には Table 1 の Control 0.0 unit と異つて雑菌の混入しているのは勿論であるが、比較的清潔に処理した牛乳を使用した。

Table 3 の結果より注射後24時間までは Penicillin が確かに含有されることが窺われる。生乳と Table 1 の 0.0 unit (予め殺菌のもの) と比較することは僅かの誤差はまぬかれぬが、加熱殺菌した供試乳と対照してみると殆んど正確に牛乳中に排出された Penicillin 含量を推定することが出来る。大体24時間以内の牛乳中でも注射後6時間前後のものが可成り Penicillin 含量が多量であると推定され、従つて乳酸菌の繁殖を最も抑制し、約 0.5 unit/ml であつて酸度 0.58、他は 0.83~0.88 程度であつた。又56時間までには漸次減少し、80時間に至ると全く平常乳と同じ様になる。又65°C 30分間加熱すると、Penicillin の力価は全く失われ、これも平常乳に近くなる。100°C 5分以内では完全に平常乳には戻らない。

3 考 察

L.B. Casei の酸生産に対する Penicillin の抑制は WILKOWSKE 及び KRIENKE 氏⁽⁵⁾の実験と殆んど同様な結果を得たが同氏の結果では 0.1~0.3 unit/ml では平常乳と同じになつていたが、本試験では 3.0 unit 以上では乳酸菌を完全に妨害し 1.0 unit でも殆んど完全ではあるが、0.6 unit より漸次抑制力を減少し、0.3 unit でも僅か乍らも矢張りその力価が残存していた。

又、加熱の影響では 100°C の1分及び5分にて Penicillin 力価には変りはないが、10分になると全くその力価が消失した。尚 80°C 20分、30分でもその力価は殆んど消失して居り、65°C 20分30分では未だ可成り Penicillin の効力があり乳酸菌繁殖の妨害となるようであるから Cheese や其他酸乳飲料製造の際の支障を来たすであろう。しかし乳牛に Penicillin 注射を実施して32時間以内では牛乳 1 c.c に対し 0.3~0.5 unit の Penicillin が含有されると推定されるが、低温殺菌65°C 30分ではその力価も僅かに低下するとはいへ、KRIENKE 氏の意見と同様、実際製造上には避けた方がよいと思う。而し乍ら、100°C 10分或は80°C 20~30分以上加熱すると牛乳 1c.c 中 5 unit 含有していたとしても Penicillin の力価は殆んど完全に失われ平常乳と同じようになるので、まして注射後は牛乳中に 0.3~0.5 unit 程度の Penicillin しか含まれていないのであるから、この温度で加熱すれば製造上何等支障を来たすことはないと思われる。

4 要 約

(1) 牛乳 1c.c に対し Penicillin 3.0 unit 添加すると *L.B. Casei* の繁殖を完全に妨害し、1.0 unit でも殆んど完全に抑制する。又 0.6 以下では漸次 Penicillin の抑制効果が低下する。即ち、温度 30°C 120時間経過後の酸度は 0.0 unit で 1.32、0.3 unit で 0.98 又、0.6、1.0 unit で各々 0.34、0.19、3.0 unit では 0.15 であつた。(但し unit は牛乳 1c.c に対する Penicillin 含量)

(2) 牛乳中 Penicillin の加熱による力価低下の試験では、100°C 1分ではその力価に余り変化なく10分以上では Penicillin の力価は全く消失して平常乳と同じ程度になる。80°C 20分、30分では何れも時間の差による力価低下の程度は同一であり、30°C 120時間で各々 1.28~1.30 の範囲の酸度を生じて殆んど平常乳に近く、殆んど Penicillin の力価は残存していなかつた。65°C 20、30分では 0.98~1.09 であつた。故に 100°C 10分或は 80°C 30分以上の加熱であればよい。

(3) 乳牛に Penicillin 注射 (3,000,000 unit) して後、32時間までは搾乳された乳汁中に可成りの Penicillin を含有する。即ち 4~8 時間後が最も多く 0.3~0.5 units、32~56時間でも 0.0~0.3 units 含まれている。80時間以上になると平常乳と変りはない。

終りに臨み、懇切なる御指導を賜った山口大学農学部木塚静雄教授、乳酸菌を分譲して戴いた本学片倉健二教授並びに御助言を賜った川村信一郎教授に対し深甚なる謝意を表す。

5 文 献

1. FOLEY, E. G., LEE, S. W., and EPSIEIN, G. A., J. Milk Technol., **8**: 129—133. 1946
2. 兼松, 相沢他: 日畜会報第22巻第2—4号、1949(昭25年4月講演要旨)
3. KRIENKE, W. A, Am. Milk. Rev., **11** (12): 24—25. 1949. Milk Plant Monthly, **38** (12): 44 1949 Dairy World, **23**(7): 42. 1949
4. HUNTER, G. J. E, J. Dairy Research, **11** : 39—45. 1949
5. KAIZNELSON, H., and HOOD, E. G., J. Dairy Sci., **32** : 961—968. 1948
6. HARGROVE, R. E, WALIER, H. E. MALKAMES, J. P., J. R., and MOSKELL, K. T. Abs. M21. J. Dairy Sci., **33**: 401. 1950
7. 「畜産の研究」第4巻第3号 133. 1950
8. WILKOWSKE, H. H., and KRIENKE, W. A, J. Dairy Sci., **34** : 1030—1033. 1951

RÉSUMÉ

This study concerns the influence of penicillin which is secreted into the milk after injection upon the lactic acid-producing ability of *Lactobacillus casei*.

1. When the milk contained more penicillin than 3.0 units/ml, no acid production was observed for 120 hrs. at 30° C. It was proved that approximately the same inhibition occurred also when the penicillin concentration was 1.0 unit/ml. Decrease of the inhibition of lactic acid by *L. casei* was noted when the penicillin concentration was lower than 0.6 unit/ml; namely, the acidity at 30°C after 120 hrs. was 1.32 at 0.0 unit, 0.98 at 0.3 unit, 0.34 at 0.6 unit, 0.19 at 1.0 unit and 0.15 at, 3.0 units or more.

2. As for the decreased ability due to heating, it suffers no change by heating for one minute at 100°C. The existence of penicillin in milk which was pasteurized for over 10 min. at 100°C or for 30 min. at 80°C was recognized as in normal milk. On the contrary heating up to 65°C for 30 min. showed the acidity of 0.98-1.09.

3. Penicillin content of cow's milk after its injection (3,000,000 unit per 700 kg. cow) was proved to be as high as 0.3 to 0.5 units/ml. after 4-8 hrs. However, as it contained only 0.0-0.3 units penicillin after 32-56 hrs., its influence was smaller and there was no immediate cause for anxiety after 80 hrs..