

飼料における細菌,酵母およびカビ類の汚染実態について

| | |
|-------|--|
| 誌名 | 日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association |
| ISSN | 04466454 |
| 著者 | 森, 實 高橋, 孝則 尾上, 洋一 高橋, 武夫 |
| 巻/号 | 30巻1号 |
| 掲載ページ | p. 19-22 |
| 発行年月 | 1977年1月 |

發育が停止し後腎発生組織までとどかない場合。

(3) 尿管芽もなく、後腎発生組織もない場合。

(4) ウォルフ (中腎) 管にも異常がある場合。

尿管は通常、(1)の場合は著しく細いかあるいは減形成した遺残物として存在するが、(2)の場合は短かい盲端の尿管となり、(3)の場合は尿管も完全に欠損する。(4)の場合は生殖器管の奇形も併発する^{5,6)}。

MULTR⁶⁾によれば、肉眼的に腎臓が認められないからといってすぐに腎無形成症と決めつけるべきではないと強調している。本来あるべき部位の結合組織も徹底的に組織学的に検査してみないと、重度の腎形成不全症を本症と誤まる場合があるという。

本症例では、最初は右尿管が細いながらも存在していたため著しい腎形成不全症かと考えられたが、組織学的検索にもかかわらず右腎臓が完全に欠損しており、DUBOIS の分類の(1)の場合にあたるものと思われる。

腎無形成症が遺伝的なものであるかどうかについては興味あるところであるが、本症例では確認できなかった。VYMETAL¹⁰⁾によれば、ビーグルにおいて1:97の頻度で一側性腎無形成症が発生し、かつ遺伝性を認めたという。

人では、両側性腎無形成症の75%に羊水過少症が認

められており、また腎無形成症は耳の奇形を併発することが多いといわれている³⁾。これらについては今後の研究にまたなければならぬ。

終わりにあたり、本論文に深いご理解をいただき、ご校閲をたまわった名古屋大学農学部生体機構学教室 保田幹男教授に心より感謝いたします。

参 考 文 献

- 1) AREY, L. B.: *Developmental Anatomy*, 6th Ed., 292~311, Philadelphia, W. B. Saunders Co. (1968).
- 2) ARCHIBALD, J.: *Canine Surgery*, 2nd Ed., 633~635, California, American Veterinary Publications, Inc. (1974).
- 3) CROCKER, J. F. S., BROWN, D. M. and VERNIER, R. L.: *Pediatric Clin. N. Amer.*, 18, 355~376 (1971).
- 4) DUBOIS, A.M.: *In ROULLER, T.C., MULLER, A.F., eds., The Kidney, Vol. I*, 46~50, New York, Academic Press (1969).
- 5) McFARLAND, L. Z. and DENIZ, E.: *J.A.V.M.A.*, 139, 1099~1100 (1961).
- 6) MURTI, G. S.: *J. A. V. M. A.*, 146, 1120~1124 (1965).
- 7) OSBORNE, C. A., LOW, D. G. and FINCO, D. R.: *Canine and Feline Urology*, 153~164, Philadelphia, W. B. Saunders Co. (1972).
- 8) ROBBINS, G. R.: *Vet. Rec.*, 77, 1345~1347 (1965).
- 9) 佐藤幸雄: 家畜の発生・解剖要説, 202~210, 学窓社, 東京 (1967).
- 10) VYMETAL, F.: *Vet. Rec.*, 77, 1344~1345 (1965).

飼料における細菌、酵母およびカビ類の汚染実態について

森 實* 高橋孝則* 尾上洋一* 高橋武夫*

(昭和51年4月14日受付)

Actual State of Contamination of Feeds with Bacteria, Yeasts and Fungi

MINORU MORI, T. TAKAHASHI, Y. ONOUE and T. TAKAHASHI

(Kanagawa Prefectural Public Health Laboratories, Yokohama 241)

SUMMARY

From single-component feeds, such as cereal, bran, oil meal, animal feed, dried grass, agricultural meal cake, and corn cob meal, were obtained 56 isolates of *Aspergillus*, of which 32 were identified as *A. flavus*. Cereal, bran, and oil meal were contaminated with large numbers of fungi and yeasts. Cereal, bran,

and dried grass were contaminated with relatively large numbers of bacteria. The isolated fungi were *Aspergillus* (64%), *Penicillium* (32%), *Mucor* (20%), *Absidia* (17%), *Rhizopus* (15%), *Cladosporium* (10%), *Scopulariopsis* (10%), *Fusarium* (9%), *Syncephalastrum* (9%), *Phoma* (7%), *Paecilomyces*, and *Mortierella*.

緒 言

近年、わが国の畜産経営における多頭羽飼育方式の増大傾向に伴って、家畜家禽の疾病対策の一環として、飼料の衛生学的品質に関するその重要性が認識されるよ

うになってきた。しかしながら、単味飼料ならびに配合飼料の微生物学的品質の実態についてはまだ不明な点が多い。これらが農水産物である以上、それぞれが収穫されてから飼料原料として飼料工場に搬入されるまでの過程の相違により、当然のことながら量的にも質的にも、それぞれの微生物叢は異なる。本調査の目的は、これら

* 神奈川県衛生研究所 (横浜市旭区中尾町 52-5)

飼料原料中に存在する諸微生物のうちで家畜家禽自体の疾病に直接関わりを有する可能性が考えられる微生物の汚染の有無, ならびに畜産物を介してヒトの健康に関わりを有する危険性のある汚染微生物の存在の有無を明らかにすることにある。

すなわち, 配合飼料原料である穀類, 諸油粕類, 乾燥牧草類など 87 試料を対象に, 平板培養法による一般細菌数, 大腸菌群, 酵母ならびに糸状菌の汚染状況を調査するとともに, これら微生物の増殖に関係が深い水分含量を測定した。糸状菌類に関しては, とくに発癌性カビ毒として世界的に注目されているアフラトキシンとの関係を重視し, アスペルギルス属については *Aspergillus flavus* の分離同定を実施した。それら菌株のアフラトキシン生産性の検討については次報に詳しく記すこととする。

材料と方法

1. 供試飼料

供試飼料原料は 1974 年 5 月から 12 月までの間に神奈川県下の配合飼料製造工場および単味飼料製造工場から採取した穀類 18, 糠・麩類 20, 油粕類 25, 動物性飼料 5, 乾草類 4 および農産製造粕など 4, 計 87 検体である (表 1)。

2. 糸状菌および酵母数の検査法

各試料を滅菌スパーテルで十分かく伴したのち, 滅菌アルミ箔上に 2g を秤量した。これを滅菌乳鉢に入れ, 滅菌リン酸緩衝食塩水 (希釈水), pH 7.0, 18 ml を加えてよく混合, 細砕して試料懸濁液を作り, これをさらに希釈水を用いて 100 倍および 1,000 倍希釈したもの各 1 ml を菌数計算の試料に供した。これらをクロラムフェニコール 100 μ g/ml 添加 Potato dextrose agar (PDA) 培地 (日水製薬) で混積培養し, 25 $^{\circ}$ C, 7 日間培養後に発育した集落数を数えた。

3. 一般細菌数および大腸菌群の検査法

一般細菌数および大腸菌群の検査はそれぞれ標準寒天培地 (日水製薬) および BGLB 培地 (日水製薬) を用い常法によって行なった⁷⁾。

4. 細菌の分離および同定

上記混積培養で発育した集落については, 記載された各属の性質にしたがって⁸⁾ 同定した。

5. 糸状菌の分離および同定

上記混積培養で発育した各種集落を Czapek Dox agar (日水製薬), 20% Sucrose Czapek Dox agar および Malt agar の各平板培地あるいはスライド培地に接種し, 記載された各属の性質にしたがって^{1,2,4,8,9,11)} 同定した。

6. 水分含量の測定法

水分含量は常圧熱乾燥法⁹⁾ を用いて行なった。

表 1 供試飼料一覧表

| 飼料の種類 | | 検体数 |
|-----------------|-----------|-----|
| 穀類 | トウモロコシ | 5 |
| | ソルガム | 5 |
| | 小麦 | 2 |
| | 大麦 | 2 |
| | 燕麥 | 2 |
| | ライ麦 | 1 |
| 糠 麩類 | 大豆 | 1 |
| | 米ぬか | 16 |
| 油 糧 種 子 粕 (油 粕) | 小麦ふすま | 4 |
| | 大豆粕 | 8 |
| | 落花生粕 | 5 |
| | ヤシ粕 | 3 |
| | 綿実粕 | 3 |
| | サフラワー粕 | 2 |
| | サンフラワー粕 | 1 |
| | 菜種粕 | 1 |
| | ごま粕 | 1 |
| | 豆麻仁粕 | 1 |
| 動物性飼料 | 魚粉 | 15 |
| | 脱脂乳 | 1 |
| 乾 草 | 乾燥アルファルファ | 2 |
| | 乾草粉 | 1 |
| | クローバー粉 | 1 |
| 農産廃棄利用物 | 乾燥グルテン | 1 |
| | 酵母ケーキ | 1 |
| | ミカン粕 | 1 |
| トウモロコシ穂軸粉 | 1 | |
| 合 計 | 87 | |

結果と考察

1. 各飼料の微生物汚染状況

表 2 に示したように, 87 検体中 80 検体 (92%) において糸状菌および酵母が検出され, また全検体から一般細菌が検出された。大腸菌群陽性のものは 40 例 (46%) であった。

飼料の種類別にみると, 穀類における糸状菌および酵母の検出頻度は 18 検体中 17 検体 (94%) であった。また一般細菌数はすべての検体から認められ, 大腸菌群陽性のものは 5 検体 (28%) であった。水分含量は 5.3 ~ 12.7% と当初予想したよりも比較的低い値を示した。なお微生物数と水分含量との間にはとくに関連性は認められなかった。KENT-JONES and AMOS⁶⁾ によれば, トウモロコシの一般細菌数は 15,000 ~ 3,500,000/g, 小麦 1,600,000/g, えん麦 1,300,000/g, 大麦 1,600,000/g およびライ麦 126,000/g であったという。一般細菌数は供試試料とした穀類の貯蔵条件等にも当然影響を受けるの

表2 供試飼料の水分、汚染細菌数および汚染糸状菌数

| 飼料 | 供試試料数 | 水分 (%) | 細菌汚染試料数 | 細菌数(1g 当たり) | 大腸菌群性 | 糸状菌汚染試料数 | 糸状菌数 (1g 当たり) |
|-----------|-------|----------|----------|------------------|----------|-----------|---------------|
| 穀類 | 18 | 5.3~12.7 | 18 | 760~4,000,000 | 5 (28%) | 17 (94%) | 10~320,000 |
| 糠 麩 | 20 | 7.9~14.0 | 20 | 3,700~13,000,000 | 16 (80%) | 20 (100%) | 330~80,000 |
| 油糧種子粕(油粕) | 25 | 6.9~12.8 | 25 | 1,900~960,000 | 12 (48%) | 23 (92%) | 10~20,000 |
| 動物性飼料 | 16 | 3.3~28.8 | 16 | 150~900,000 | 3 (19%) | 13 (81%) | 10~20,000 |
| 乾 草 | 4 | 9.0~12.9 | 4 | 1,500~2,000,000 | 2 | 4 | 40~3,000 |
| 農産廃棄利用物 | 3 | 8.9~11.6 | 3 | 700~16,000 | 1 | 2 | 20~50 |
| トウモロコシ穂軸粉 | 1 | 8.6 | 1 | 420,000 | 1 | 1 | 1,300 |
| 合計 | 87 | 3.3~28.8 | 87(100%) | 150~13,000,000 | 40 (46%) | 80 (92%) | 10~320,000 |

で一律に彼らの成績を比較することはできないにしても、大体似かよった結果といえよう。

糠・麩類においては、20検体のすべてから糸状菌および酵母が検出されており、菌数は330~80,000/gであった。同飼料中の一般細菌数は、3,700~13,000,000/gと比較的多く、これら細菌の多くは *Flavobacterium* および *Achromobacter* であった。また大腸菌群陽性例の頻度も80%と今回調査した飼料各群のうちでは高い値を示した。なお水分含量は7.9~14.0%であった。

油粕類では、糸状菌および酵母検出頻度は25検体中23検体(92%)であり、一般細菌数もかなり多く、これらの細菌の多くは *Bacillus* であった。製造過程のどの時点でこれらの細菌で汚染されたものか不明であるが、多くの細菌が一般的に耐熱性が高く、かつ孢子形成能のある *Bacillus* であったことから、おそらく油脂採取工程の熱処理前¹⁰⁾に汚染されたものと考えられる。

動物性飼料では、糸状菌および酵母の検出頻度は16検体中13検体(81%)であった。

乾草類では、糸状菌および酵母は4検体のすべてから検出された。

農産廃棄利用物では、3例中2例から糸状菌および酵母が検出された。またトウモロコシ穂軸粉は、一般細菌数42,000/g、糸状菌および酵母数1,300/gであった。

2. 汚染糸状菌の種類

全体的にみると、87検体中最も高率に分離されたのは *Aspergillus* で56検体(64%)から、ついで *Penicillium* 28検体(32%)、*Mucor* (20%)、*Rhizopus* (17%) および *Cladosporium* (15%) などの順であった。各単味飼料群別に検出したすべての糸状菌頻度は表3にまとめて示した通りである。ここにおいてとくに *Af* との関連において *A. flavus* に注目して考察してみた。*Aspergillus* のうちで *A. flavus* は32検体(37%)から分離

第3表 供試飼料から分離した糸状菌の種類

| 属 | 陽 性 数 (率) | | | | | | | 合計 |
|-----------------------|-----------|---------|-----------|--------|-----|---------|-----------|---------|
| | 穀類 | 糠 麩 | 油糧種子粕(油粕) | 動物性飼料 | 乾 草 | 農産廃棄利用物 | トウモロコシ穂軸粉 | |
| <i>Aspergillus</i> | 11(61%) | 18(90%) | 16(64%) | 7(44%) | 3 | 1 | — | 56(64%) |
| (<i>A. flavus</i>) | 8(44%) | 10(50%) | 11(44%) | 1 | 1 | 1 | — | 32(37%) |
| <i>Penicillium</i> | 8(44%) | 8(40%) | 8(32%) | 4(25%) | — | — | — | 28(32%) |
| <i>Mucor</i> | 4 | 3 | 5 | 4 | — | 1 | — | 17(20%) |
| <i>Absidia</i> | 2 | 4 | 5 | 2 | 2 | — | — | 15(17%) |
| <i>Rhizopus</i> | 2 | 5 | 3 | 2 | — | — | 1 | 13(15%) |
| <i>Cladosporium</i> | 2 | 1 | 4 | 2 | — | — | — | 9 |
| <i>Scopulaviopsis</i> | 1 | — | 5 | 2 | 1 | — | — | 9 |
| <i>Fusarium</i> | 4 | 3 | 1 | — | — | — | — | 8 |
| <i>Syncephastrum</i> | 1 | 1 | 5 | 1 | — | — | — | 8 |
| <i>Phoma</i> | 1 | 5 | — | — | — | — | — | 6 |
| <i>Paecilomyces</i> | 1 | — | 2 | — | — | — | — | 3 |
| <i>Mortierella</i> | — | 1 | 2 | — | — | — | — | 3 |
| <i>Avthrinium</i> | — | — | — | 1 | — | — | — | 1 |
| <i>Gliomastix</i> | — | — | — | — | 1 | — | — | 1 |
| <i>Monascus</i> | — | — | — | — | 1 | — | — | 1 |
| Not identified | 3 | 4 | — | — | — | — | — | 7 |
| 供試数 | 18 | 20 | 25 | 16 | 4 | 3 | 1 | 87 |

された。

穀類における汚染菌属をみると、*Aspergillus* の検出率が 18 検体中 11 (60%) と最も高く、うち *A. flavus* は 8 検体から検出された。*A. flavus* が検出された 8 検体の内訳は、トウモロコシ 5 検体、大麦 2 検体およびコーリヤン 1 検体であった。すなわちトウモロコシと大麦ではすべての検体から *A. flavus* が検出されたこととなる。

鶴田¹²⁾によれば、飼料用として輸入したトウモロコシでは、*Aspergillus* が最も多く、ついで *Penicillium*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Mucor* および *Alternaria* などの順で、*A. flavus* は 11 検体中 7 検体から検出されたと述べている。また VAN WARMELO¹³⁾によれば、貯蔵トウモロコシミール 8 検体から分離された糸状菌の種類は *Aspergillus* が最も多く、ついで *Phoma*, *Rhizopus*, *Hormodendrum* および *Paecilomyces* などで、*A. flavus* は 2 検体から検出されたと述べている。

糠・麩類では、*Aspergillus* が 90% の検体から分離され、とくに *A. flavus* のみに限れば 10 検体 (50%) から検出されている。このように、*A. flavus* が糠 16 検体中 8 検体、麩 4 検体中 2 検体から高率に検出されたことは注目に値する。繁殖条件さえ整えば汚染度はさらに増大する可能性も考えられよう。

油粕類においても、また *Aspergillus* の検出率は 25 検体中 16 (64%) と最も高く、うち *A. flavus* は 11 検体 (44%) から検出された。また *A. flavus* が検出された検体の内訳は、大豆粕 8 検体中 3 検体、ピーナツミール 5 検体中 3 検体およびサフラワー粕 2 検体中 1 検体であった。油粕は熱処理工程を経ていることから考えると、*A. flavus* による汚染は熱処理以後の取り扱い中に起こしたものであろう。

動物性飼料でも、*Aspergillus* が最も高頻度で、*Aspergillus* 7 株中 1 株は *A. flavus* であった。乾草類においては、*Aspergillus* が 4 検体中 3 検体から分離されており、そのうち *A. flavus* は 1 株であった。また農産廃棄利用物からは、*Aspergillus* (*A. flavus*) が検出された。

VAN WARMELO¹³⁾によれば、乾草 (アルファルファ) 類における菌分布は、*Aspergillus*, *Penicillium* が上位を占め、*A. flavus* は 7 検体中 3 検体から検出されたと述べている。著者らの成績もこれと類似している (表 3)。各単味飼料群での成績をみると、家畜飼料中での配合割合が高い穀類、糠や麩、油粕等において、63 検体中 29 検体 (46%) から *A. flavus* が検出されている。この事実は、Af との関連において注目に値し、したがってこれら分離 *A. flavus* の Af 生産能に関して検討を加えた。今回微生物汚染状況の実態を推測する目的に供試した全飼料について、化学分析により実施したアフラトキシン自体の汚染調査成績を併せて第 2 報に報告する。

要 約

単味飼料が有害糸状菌とくにアフラトキシンを産生する可能性のある *A. flavus* にどの程度汚染されているかを知り、獣医公衆衛生ならびに食品衛生に役立てる目的で、本菌を中心に、糸状菌および酵母数、一般細菌数、大腸菌群および水分含量を比較検討した。

1) *A. flavus* は 87 検体中 32 検体 (37%) とかなり高率に検出された。その内訳は、穀類 8/18 (44%)、糠・麩類 10/20 (50%)、油粕類 11/25 (44%)、動物性飼料 1/5、乾草類 1/4 および農産廃棄利用物 1/3 であった。

2) 検体 g あたりの糸状菌および酵母数は、穀類、糠・麩類、油粕類で比較的多かった。また飼料 g あたりの一般細菌数は、穀類、糠・麩類および乾草類で多かった。大腸菌群陽性率は 46% であった。なお、検出菌数と検体の水分含量との間にはとくに関連性は認められなかった。

3) 検出された糸状菌の種類をみると、*Aspergillus* (64%)、*Penicillium* (32%) が高頻度であり、その他 *Mucor*, *Absidia*, *Rhizopus*, *Cladosporium*, *Scopulariopsis*, *Phoma*, *Paecilomyces* および *Mortierella* などであった。

文 献

- 1) BARRON, G. L.: *The Genera of Hyphomycetes from Soil*, pp. 17~330, Huntington, New York, Robert E. Krieger Publishing Co., Inc. 2) BARNETT, H. L.: *Illustrated Genera of Imperfect Fungi, 2th Ed.*, pp. 36~201, Minesota, Burgess Publishing Co. (1967). 3) 春田三佐夫: モダンメデア, 20, 273~288 (1974). 4) 長谷川武治: 微生物の分類と同定, 東京, 東京大学出版会 pp. 9~62 (1975). 5) 食品衛生検査指針: I. pp. 18~19, 東京, 日本食品衛生協会. 6) KENT-JONES and AMOS: *Modern Cereal Chemistry*, pp. 511~538, New York and London, Food Trade Press. Ltd. (1967). 7) 松井武夫, 桑原章吾: 食品衛生試験法の実際, 一細菌学的検査— pp. 51~83, 東京栄研化学株式会社 (1970). 8) RAPER, K. B., FENNEL, D. I.: *The Genera Aspergillus*, 13~577, Maryland Williams and Wilking Co., Baltimore (1965). 9) RAPER, K. B., THOM, C.: *A Manual of the Penicillia*, pp. 14~704, New York and London, Hafner Publishing Co., Inc. (1968). 10) 桜井芳人, 齊藤道雄, 東秀雄, 鈴木明治: 総合食料工業, pp. 231~254 東京, 恒星社, 厚生閣 (1970). 11) SMITH, G.: *An Introduction to Industrial Mycology Sixth Ed.*, pp. 6~217, London, Edward Arnold Ltd. (1969). 12) 鶴田理, 真鍋勝, 杉本貞三, 南沢正敏: 食糧研報告, 27, 47~52 (1972). 13) VAN WARMELO, K. T.: *Onderspoort. J. Vet. Res.*, 34, 439~450 (1967).