

原 著

養豚用配合飼料の微生物汚染について

赤池 洋二* 中島 隆夫* 中山 昇* 長田 久*
 柏崎 守**

Contamination of Aerobic Bacteria in Materials
for Feed and Commercial Feed for Swine

Y. Akaike*, T. Nakajima*, N. Nakayama*, H. Osada*
 M. Kashiwazaki**

* Reserch Laboratory of Amino Feed Industrial Inc.Ltd., Yokohama, Japan.

** First Research Division of National Institute of Animal Health, Tokyo Japan.

Main materials for feed and practical commercial feeds for swine were observed on bacterial contamination from which *Escherichia coli* and other aerobic bacteria, mainly belonged to Genus Bacillus, were determined. And various methods were also carried out to sterilize the feeds.

The results were as follows ;

1. Most of feed materials tested, except with fish soluble and corn steep liquor, were contaminated with 10^4 - 10^6 of *E. coli*, and all of them tested were contaminated with 10^4 - 10^7 of aerobic Gram positive organisms involving fungi.

2. No *E. coli* contamination in all pelleted feeds were observed, but all grounded feeds tested were contaminated with 10^4 - 10^5 of *E. coli*.

3. Gamma-ray irradiation of 10^5 Röntgen were effective to kill *E. coli* and to reduce viable counts of other aerobic organisms. However, it was supposed that the gamma-ray utilization in practice was difficult as it needs considerably high

Röntgen gamma-ray irradiation.

4. Various feeds for swine were exposed to ethylen oxide gas (carbon oxide 70% plus ethylen oxide 30% ; commercial name was Capox 30) for 12 to 16 hours. This method was most effective to kill the contaminated organisms, but it was not known about subsidiary effects that the gas, remaining in feed or ethylen glycol criated as result of reaction, were toxic for swine or not. Accordingly, it must be studied that toxicity of ethylen oxide gas or ethylen glycol against the mixed feed.

5. *E. coli* contained with 10^4 - 10^6 in all of feeds for swine were reduced completely by pelletining treatment, and other aerobic organisms also reduced from 10^5 - 10^7 per gram to 10^4 - 10^5 per gram.

From the results mentioned above, it seems to be useful that the process of pelletizing was most inexpensive and practical to avoid *E. coli* and to reduce total count of aerobic organisms.

* アミノ飼料工業株式会社研究所

** 農林省家畜衛生試験場 研究第一部

G. A. Young らによって開発された SPF 豚作出技術¹²⁾と、それによる集団変換方式^{4, 5, 6, 13, 14)}は、ネブラスカ州を中心として大きな成果¹¹⁾を収めている。わが国における SPF 豚の技術は、G. A. Young らの技術¹²⁾をもとに、波岡ら^{7, 8)}、赤池ら^{1, 2, 3)}によって確立され、すでに本格的実用化の段階をむかえている。

しかしながら、養豚用飼料の微生物汚染の問題が、家畜の健康状態 (SPF 状態) の維持という見地から検討されたことはない。わが国の飼料原料の大部分は輸入されたものであるが、輸入検疫において、害虫の侵入に対しては厳重な水際作戦がとられるのに反し、動物に有害な微生物の侵入を防ぐという点についての考慮ははられていない。

D. C. Tudor¹⁰⁾は米国内務省の調査例を次のようにのべている。米国内 700 工場から集めた 12,714 サンプルの動物性飼料中 5% からサルモネラを検出した。また、鶏用配合飼料 6.3%, 豚用 4.2%, 牛用 1% が汚染されていたとのべている。さらに、これらの汚染が野鳥、ねずみなどが媒体となりうることを示唆するとともに、サルモネラを排除するためには 200~300°F で水分が 25~35% なければならないことをのべている。

W. L. Sippel⁹⁾は家畜の疾病の 98% 以上は飼料と直接の関係はないが、2% 程度のもは飼料となんらかの関係があるが、そのうち最も重大な問題は飼料のサルモネラ汚染であるとのべている。動物性飼料は加熱処理されるため殺菌が完全に行なわれるにもかかわらず、サルモネラ汚染がみられるのは、加工処理後の汚染と貯蔵中にネズミによって媒介されることが考えられるとしている。

わが国では現在こうした動物性飼料原料は魚粉を除いてはほとんど使われていないというものの、SPF 豚が一般化された場合、SPF 状態の維持が保証されるかどうか大きな問題である。

われわれは、SPF 豚実用化への研究を開始するにあたり、養豚用飼料の微生物汚染の問題をとりあげることとした。ヒトの食品衛生基準

を参考にしつつ、現在市販されている養豚用配合飼料の原料および製品について、糞便汚染の指標として大腸菌汚染をしらべ、現在の飼料がそのまま SPF 状態の維持という目的にかなうかどうか検討した。

また本実験の目的を、糞便汚染によってもたらされる病原微生物を排除することにおき、飼料中に含まれる大腸菌をとり除くとともに総菌数も 10^4 台におさえる方法を検討したので報告する。

材料および方法

可検材料：飼料原料は、魚粉、脱脂大豆、ふすま、マイロ、メイズ、フィッシュ・ソリュブル、GSP (grain screenig pellet)、アルファルファ、CSL (corn stiff liquor)、糖密などを対象とし、液体原料以外はすべて配合飼料用に粉砕したものをを用いた。市販配合飼料は、人工乳 A, B, 育成前期用、後期用、および種豚用について、それぞれ異なるロットごとに数点ずつサンプリングを行ない、試験に供した。

細菌検査法：可検材料 1g にトリプトケース・ソイ・ブロス (Trypticase soy broth) 9 ml を加え、Potter のグラスミールでホモゲナイズ後、10 倍段階希釈を行ない、その 0.2 ml をマッコンキー (McConkey) 寒天または DHL 寒天、および血液平板寒天に塗抹、乾燥したのち、37°C で 24 時間培養し、菌数を算定した。

γ 線照射：まず各サンプルについて、細菌数をチェックしたのち、約 5 g ずつのサンプルを滅菌試験管に入れ、⁶⁰Co を線源として 10 万、40 万、70 万、100 万レントゲンの γ 線を照射したのち生残細菌数をしらべた。

エチレンオキシドガスによる殺菌効果：まず、500 g のサンプルをビニール袋に入れ、滅菌器内に収め、減圧置換法によってガスを満たし、50°C に加温して 12 時間放置後細菌検査を行なった。次に飼料の市販品を 20 kg 包装のまま上と同じような方法で 16 時間くん蒸を行なった。なお使用したガスはエチレンオキシド 30%、炭酸ガス 70% の混合ガス (商品名カポックス 30) であった。

ペレット化による飼料の清浄化効果：実験用ペレットミルによって製造した製品の細菌数を調べ、さらに、工場生産の製品についても同様の細菌検査を行なった。

成 績

1) 養豚用飼料の微生物汚染

人工乳 A (prestarter) 4 ロット, 人工乳 B (starter) 9 ロット, 肥育 (grower 1) 前期用 4 ロット, 肥育 (grower 2) 後期用 5 ロット, 仕上用 (finisher) 6 ロット, 種豚用 (sow) 3 ロットについてしらべたサンプル 1 g 中の細菌数を表 1 に示した。人工乳 A および人工乳 B では大腸菌数 0, 総菌数 10^4 台で, SPF 豚用としてほぼ安心して使用できると思われる菌数であったが, ほかの銘柄はすべて大腸菌 $10^4 \sim 10^5$, 総菌数 $10^4 \sim 10^6$ で, このままでは SPF 豚用として不適当であろうと思われる。なお, 人工乳 A

および人工乳 B はクランブルであり, ほかはマッシュであった (表 1)。

2) 養豚用飼料主原料の微生物汚染

銘柄別にみた微生物汚染の成績から, 原料を選択することによって大腸菌を含まない飼料を製造することができるかどうかを検討するために, 主原料の微生物汚染をしらべた。

魚粉, フィッシュ・ソリュブル, 糖蜜, GSP (Grain screening pellet) CSL (Corn stiff liquor) では大腸菌はほとんど含まれず, 総菌数も低水準であったが, 例外的に糖蜜には酵母が約 10^7 程度含まれていた。ほかの主原料では大腸菌, 総菌数とも製品とほぼ同程度の細菌汚染がみられ, 原料選択によって SPF 豚用飼料を製造することは不可能であることが判明した (表 2)。

3) 放射線利用による殺菌効果

^{60}Co を線源として γ 線照射を行なった。照

表 1 The Bacterial Contamination of Commercial Feed for Swine.

Use for	Nos. of sample tested	Nos. of E.coli	Nos. of total bact.	Remarks
Prestarter	4	0	3.0×10^4	Pellet
Starter	9	0	2.1×10^4	Pellet
Grower 1	4	1.6×10^5	3.3×10^5	Mash
Grower 2	5	8.0×10^4	5.1×10^5	Mash
Finisher	6	3.6×10^5	1.7×10^6	Mash
Sow	3	2.0×10^4	3.8×10^4	Mash

表 2 The Bacterial Contamination of the Material for Assorted Feed.

Material	Nos. of E.coli	Nos. of total Bacteria
Fish meal	7×10^1	3.5×10^4
Fish soluble	0	5.0×10^4
Soy beans (solvent)	1.3×10^8	5.2×10^8
Bran	3.0×10^4	2.8×10^5
Milo	1.5×10^5	1.2×10^6
Maize	3.1×10^4	2.8×10^5
Acorn	1.7×10^8	1.1×10^5
Molassès	0	2.0×10^7
G. S. P*	1.3×10^8	1.2×10^6
C. S. L**	0	8.0×10^8
Alphalpa meal	1.3×10^4	1.6×10^5

* Grain screenig pellet.

** Corn steep liquor.

射線量は、10万、40万、70万、100万レントゲンとしたが、大腸菌は10万レントゲンですべて死滅したのに対し、70万レントゲンでも生残した細菌のほとんどは有芽胞菌であった(表3)。

4) エチレンオキサイドガスによる飼料の殺菌効果
エチレンオキサイド 30%ガスによる殺菌効果はきわめて良好で、12時間くん蒸によってすべての細菌が死滅した(表4)。

また、配合飼料の製品 20kg 包装のまま 16

時間くん蒸した場合にも前者と同じ結果が得られた。

5) 湿熱処理とペレットングによる飼料の清浄化効果(表5)

一般配合飼料製造に行なわれるペレット化が、どの程度飼料の清浄化に役立つかをみるためにこの試験を行なった。実験用ペレットミル(California pellet mill)を用い、蒸気圧 5 kg/cm² とし蒸気噴射量を加減しながらペレットングを行なったが、ペレットの製品温度は60°C

表3 Bactericidal Effect of γ -ray Irradiation on Feed for Swine.

Feeds	Nos. of bacteria before irradiation		Nos. of bacteria after irradiation							
			1×10 ⁵ Röntgen		4×10 ⁵ R.		7×10 ⁵ R.		1×10 ⁶ R.	
	E. coli	Total bact.	E. coli	Total bact.	E. coli	Total bact.	E. coli	Total bact.	E. coli	Total bact.
1	0	2.4×10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	4.3×10 ⁸	0	0	0	0	0	0	0	0
3	3.4×10 ⁵	8.4×10 ⁵	0	2.0×10 ⁴	0	1.0×10 ²	0	4.0×10 ¹	0	0
4	4.0×10 ⁴	2.2×10 ⁵	0	1.2×10 ⁵	0	3.0×10 ²	0	1.2×10 ²	0	0
5	2.4×10 ⁵	3.2×10 ⁶	0	2.9×10 ⁵	0	1.6×10 ⁴	0	3.1×10 ²	0	1.0×10 ¹
6	3.0×10 ⁴	2.4×10 ⁴	0	9.2×10 ³	0	2.0×10 ²	0	0	0	0

表4 Bactericidal effect of ethylen oxide gas on Feed for Swine.

Feeds	Nos. of bacteria before expose to Ethylen oxide gas		Nos. of bacteria after expose for 12 hrs to Ethylen oxide gas	
	E. coli	Total bact.	E. coli	Total bact.
1	0	3.0×10 ⁴	0	0
2	0	2.1×10 ⁴	0	0
3	2.0×10 ⁵	3.3×10 ⁵	0	0
4	8.0×10 ⁴	5.1×10 ⁵	0	0
5	3.6×10 ⁵	1.7×10 ⁶	0	0
6	2.0×10 ⁴	3.8×10 ⁴	0	0

表5 Clean up Effect of Pelletting on Feed for Swine. (1)

Lot tested	Befor Pelletting		After Pelletting			
			Befor drying		After dried	
	E. coli	Total bact.	E. coli	Total bact.	E. coli	Total bact.
1	4×10 ⁴	2.2×10 ⁵	7.2×10 ²	4.8×10 ³	3.9×10 ²	1.5×10 ⁴
2	1.8×10 ⁵	4.0×10 ⁵	0	2.6×10 ⁴	0	2.4×10 ⁴
3	1.0×10 ⁵	4.3×10 ⁵	4.0×10 ³	1.2×10 ⁵	5.9×10 ³	1.2×10 ⁵
4	8.1×10 ⁴	2.4×10 ⁵	3.2×10 ²	4.5×10 ⁴	7.3×10 ³	2.4×10 ¹
5	7.9×10 ⁴	1.9×10 ⁵	0	5.1×10 ⁴	0	1.9×10 ⁴
6	2.0×10 ⁵	1.1×10 ⁶	1.4×10 ⁵	4.3×10 ⁵	2.3×10 ⁵	4.2×10 ⁵

表 6 Clean up Effect of Pelletting on Feed for Swine. (2)

Use for	Nos. of samples tested	Nos. of bacteria before pelleting		Nos. of bacteria after pelleting	
		E. coli	Total bact.	E. coli	Total bact.
Prestarter	4	4.3×10^4	3.9×10^5	0	1.2×10^4
Starter	5	2.5×10^4	1.6×10^5	0	2.5×10^4
Grower 1	3	3.2×10^5	3.3×10^5	0	1.7×10^4
Grower 2	4	2.7×10^5	4.8×10^5	0	4.9×10^4
Finisher	3	3.6×10^5	1.0×10^6	0	3.8×10^4
Sow	3	2.8×10^4	3.8×10^4	0	4.0×10^4

～80°Cであった。このような条件のもとで製造された飼料の清浄化効果を表5に示した。

飼料中に含まれる大腸菌をすべて死滅させることはできなかったが、サンプルによってはその目的を十分達していると思われるものもあった。このことから、配合飼料工場における大量生産の場合、ペレティングの条件を一定にすれば原料中に含まれる大腸菌を排除することができるのではないかと考えられた。

現在、SPF豚用飼料として製造しているものは表6のような微生物汚染度のものであるが、原料汚染のいかんにかかわらず、ペレット化することによって、大腸菌を完全に排除し、総菌数も 10^4 台におさえることが完全にできることを示している(表6)。

考 察

現在ほど家畜の疾病が畜産経営に大きな影響をおよぼしたことはかつてない。急性法定伝染病については、研究のめざましい発展と、関係者の強力な政策推進によって、ほぼ問題はなくなりつつあるといえようが、豚の場合はそれにかわって新しく流行性肺炎、萎縮性鼻炎、豚赤痢など重大な問題となってきたことはさきにも述べた通りである。このようなとき、SPF豚実用化の意義ははかり知れないほど大きいものがある。

SPF豚の作出技術あるいは飼養技術は波岡らを中心とするSPF豚研究グループによって確立された。今後の課題はSPF状態を維持することに技術の焦点が移ることになるだろうが、このなかで交通規制とならんで重要なことはSPF

豚用飼料の微生物規制であろう。

わが国のように原料を国外に依存している場合、外国で動物の糞便に汚染されたあかしとしての大腸菌が多数含まれていることが問題である。米国などのように、自国産の原料を使用しているところでは、SPF豚用飼料に関する微生物規制はまったく行なわれていない。

成績に示した程度の微生物汚染でSPF状態の維持に影響があるのか否か今後の検討にまたなければならぬが、SPF豚が出発段階でつまづくことがあってはならない。このような見地から現在市販されている配合飼料の微生物汚染をしらべたわけであるが、大腸菌汚染がかなりひどく、現段階でそのままSPF豚用として使用することには問題があろう。

そこで、 γ 線照射、エチレンオキシドなどによる殺菌効果について検討した。医療器具あるいは、食品などの殺菌に γ 線照射が利用されるが、飼料の清浄化に γ 線を利用する場合、大量の照射線量を必要とするところから、実用価値はあまりないものと思われる。われわれが試算したところによると、 γ 線照射の場合の採算限界は300～600レントゲン以下である。

つぎに、エチレンオキシドガスは、コストも非常に安価で採算面では問題がないが、飼料中に残存するガスの許容限界が不明であること、あるいは反応時に生成されるエチレングリコールが豚にどのような影響をおよぼすのか、今後に残された研究課題といえよう。

ペレット化による飼料の清浄化は、実験室段階ではそれほど満足できる成績は得られなかったが、工場において大量生産されたものについて

てみると、品質はきわめて安定し、大腸菌数 0、総菌数 10^4 台が確保されているところから、今後 SPF 豚の実用化にともなう養豚用飼料は当分の間、ペレットまたはクランブルを使用すべきであろうと考えられる。

本実験を実施するにあたり、 γ 線利用に絶大なご援助をいただきました農林省家畜衛生試験場アイソトープ研究室林光昭技官、およびガス殺菌に多大のご協力をいただきました日東理化学工業株式会社石谷氏に深甚の謝意を表します。

文 献

- 1) 赤池洋二, 中島隆夫, 中山昇, 持田堯舜, 有吉修二郎, 湯本健吾, 波岡茂郎: SPF 豚に関する研究IV. Primary SPF 豚の飼養試験, 日本畜産学会第53回大会, 京都, (1967).
- 2) 赤池洋二: SPF 豚用飼料と SPF 豚の成長, 飼料と飼料工業, **36**, 36-42 (1967).
- 3) 赤池洋二: SPF 豚実用化のための技術システム. 畜産の研究, **24**, 569-574 (1970).
- 4) Caldwell, J.D., Sumption, L.J., and Young, G.A.: Swine Repopulation II. Performance of "Disease-Free" Boars on Farms with Diseased Pigs. J.A.V.M.A. **135**, 504-505 (1959).
- 5) Caldwell, J.D., Underdahl, N.R., and Young, G.A.: Swine Repopulation III. Performance of Primary Specific Pathogen-Free Pig on Farms. J.A.V.M.A. **138**, 141-145 (1961).
- 6) Caldwell, J.D., Sumption, L.J., and Young, G.A.: Swine Repopulation IV. Influence of Management upon the Growth of Specific Pathogen-Free (SPF) Pigs. J.A.V.M.A. **138**, 342-344 (1961).
- 7) 波岡茂郎: SPF 豚について, 日獣会誌, **21**, 300-305 (1968).
- 8) 波岡茂郎, 湯本健吉, 柴田重孝: SPF (Specific Pathogen Free) 豚の微生物検定について. 日獣学誌, **29**, 21-32 (1967).
- 9) Sippel, W.L.: Feed stuffs, **33**, 18 (May 6) 140 (1961).
- 10) Tudor, D.C.: Feed stuffs, 406(Feb.10) 22 (1968).
- 11) Underdahl, N.R., Coupe, R.E., Ferguson, D.L., Peo, E.R. and Twiehaus, M.J.: Nebraska's Specific Pathogen-Free (SPF) Swine Program Tenth Year Report, 3-15 (1968) Univ. of Nebraska, Lincoln, U.S.A.
- 12) Young, G.A., Underdahl, N.R. and Hinz, R.W.: Procurement of Baby Pig by Hysterotomy. A.J. Vet. Res., **14**, 123-131 (1955).
- 13) Young, G.A., Underdahl, N.R., Sumption, L.J., Peo, R.E., Olsen, L.S., Kelley, G.W., Hudman, D.B., Caldwell, J.D., and Adams, C.H.: Swine Repopulation I. Performance within a "Disease-Free" Experiment Station Herd. J.A.V.M.A. **134**, 491-496 (1959).
- 14) Young, G.A., Underdahl, N.R., Welch, L.C., and Caldwell, J.D.: Swine Repopulation V. Certification and Farm Performance of Secondary Specific-Pathogen Free (SPF) Pigs. J.A.V.M.A. **140**, 1196-1200 (1962).

※

※

※