

平成 21 年度 III. 生産流通部門（業務成績関係）

4. 技術職員の研究発表

この報告は平成 21 年 2 月 20 日 生理学・生物学技術研究会において口頭発表したものである。

小規模ミルクプラントにおける Koch 法とスタンプ法 による製造環境の微生物検査

技術職員 村上文朗

MURAKAMI Fumiaki : Microbiological inspection in environment of small scale milk processing factory
by Koch's method and stamp method

Milk processing factory of Obihiro University of agriculture and veterinary medicine is processing raw milk from the university farm and selling it inside and outside of the campus. Due to overage facilities and house, ventilation system and floor of the factory were repaired in spring 2008. The aim of this study was to confirm improvement of hygiene status after repairing.

[Materials and Methods] The area of the milk processing was separated into 3 zones of 'contaminated', 'slightly contaminated' and 'clean'. In these 3 zones, total microbial counts in environment were measured 3 times by original Koch's method, and twice by its prolonged method. To evaluate status of floor hygiene, general microbial counts were measured twice by Stamp method just before starting the packaging process. All the results of microbiological tests were evaluated based on standard of the hygiene model shown by Ministry of Health, Labor and Welfare.

[Results and discussions] Total microbial counts in 3 zones were observed under the criteria, before and after repairing. Furthermore, results of microbial counts in prolonged method, decreased significantly after repair in 'clean zone' ($P < 0.05$). To evaluate hygiene level of floor, general bacterial counts were assigned as 0 to 6 scores; 0: clean, 6: heavy contaminated. In 3 of 24 parts of floor, the average hygienic score decreased significantly after repairing ($P < 0.05$). In conclusion, it was confirmed that repairing of milk plant could decrease microbial pollution successfully in milk processing environment.

1. はじめに

食品製造の現場では 1995 年の食品衛生法の一部改訂による『総合衛生管理製造過程』(HACCP) 承認制度の導入や、同年の PL 法の施行など、衛生管理に関する状況が大きく変化している。HACCP の導入には一般的衛生管理 (PP) の徹底が基本となる。この PP の一つが環境衛生管理であり、食品の二次汚染対策として重要である。特に製造環境の落下微生物数については、厚生労働省が設定した衛生規範 (表 1) にその基準値が示されている³⁾。設備機器表面や作業者の手指の汚染度評価には Ten Cate の評価基準 (表 2) が参考にされている^{1), 2)}。帯広畜産大学乳製品工場では、農場で生産した生乳を『畜大牛乳』として紙パック牛乳に加工し、学外販売を行っている。当工場は施設の老朽化に伴い、2008 年 2~3 月に、高性能 (HEPA) フィルターを取り入れた換気システムの導入や床材の更新による排水性ならびに、作業手順改善のための製造ライン一部更新など施設改修を行い、製造工程の作業動線を改善した。そこで、施設改修による製造工程の衛生状態改善効果を検証する

ことを目的として、Koch 法とスタンプ法による環境微生物数を改修前後で比較検討した。

2. 材料と方法

試験期間は、工事が行われた 2008 年 2~3 月の前を第一期 2007 年 10~12 月、後を第二期 2008 年 10~11 月とした。工事および改善の概要は以下のとおり。

(1) 改修工事の概要

① 経年劣化により荒れていた床 (人研石) をポリウレタン系床材で補修した。また、施設内を衛生管理水準により 3 区に分け、床材の色で受入室を緑 (汚染作業区) に、殺菌室を黄緑 (準清潔作業区) に、充填室をクリーム (清潔作業区) に区分した (図 1)。
② 換気システムには準清潔作業区と清潔作業区では HEPA フィルターを導入して陽圧換気を維持するようにし、汚染作業区側に空気が流れるようにした (図 1, 4)。
③ 製造機器周囲に排水口を増設し、床面の乾燥性向上を図った。
④ 汚染作業区の製造ラインを一部改修し、原料の受入手順を簡素化した。
⑤ 清潔作業区にコンベアを新設し、隣室 (梱包室) へ製品を

平成 21 年度 III. 生産流通部門（業務成績関係）

自動運搬出来るようにした（図 1, 7）。⑥準清潔作業区と清潔作業区の間にエアーシャワーを導入し、清潔作業区の空気清浄度（BCR）の維持を図った（図 1, 5）。

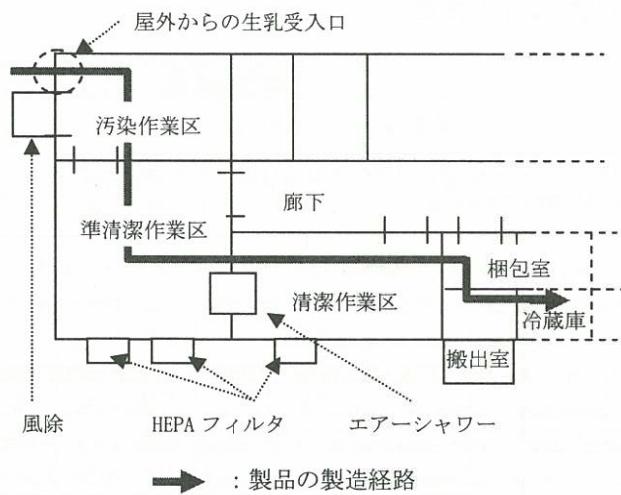


図 1 改修後の乳製品工場製造室概略図

汚染作業区で一時的に貯乳した生乳は、準清潔作業区にて殺菌と冷却が行われ、清潔作業区でパック詰めされる。その後、梱包室を経由し冷蔵庫で保管され搬出室より出荷される。

（2）試験方法

①Koch 法

製品製造時に Koch 法による落下微生物を測定した。衛生規範に従い 3 区画について落下細菌数（標準寒天培地）と、清潔作業区については落下真菌数（CP 加ポテトデキストロース寒天培地：栄研化学株式会社）も測定した。公定法に従い、床面から約 80cm の台上に寒天培地（9cm シャーレ）を置き開放した後、培養し発育したコロニー数（CFU）を改修前後で比較した。なお、公定法（開放時間：落下細菌 5 分、落下真菌 20 分）では殆ど CFU 形成が認められなかったため、開放時間をそれぞれ 1 時間に延長して 2 回測定した。培養条件は落下細菌を $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 、48 ± 3 時間、落下真菌を $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、7 日間とした。

表 1 食品工場の清潔度区分

清潔度区分	落下細菌数	落下真菌数
汚染作業区	100 個以下	
準清潔作業区	50 個以下	
清潔作業区	30 個以下	10 個以下

出典 厚生労働省「弁当及びそばざいの衛生規範」

②スタンプ法

製造開始前の床面の衛生状態について、前日の製造終了後に床洗浄し、当日まで乾燥させた床面を、スタンプ法（ペタンチェック 25：栄研化学株式会社）により一般細菌数（標準寒天培地： 25cm^2 ）と大腸菌群数（デソキシコレート寒天培地： 25cm^2 ）を各 2 回測定した。同様の条件で、汚染度が高いと思われる製造機器脚部や排水ホースと床の接触面（図 2）、排水口近辺についても測定した。スタンプ培地は検査部位の表面に 10 秒間押し付け $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 、48 ± 3 時間培養した。観測したコロニー数から、Ten Cate の評価基準により検査部位の汚染度を 6 段階（0～5）に評価した（表 2）。

表 2 Ten Cate の評価基準

コロニー数	汚染度	判定表記
発育なし	0	非常に清潔
10 個以下	1	ごく軽度の汚染
10～30 個	2	軽度の汚染
30～100 個	3	中程度の汚染
100 個以上	4	やや激しい汚染
無数（200 個以上）	5	激しい汚染

※検査面積： 9cm^2 について

出典 栄研グループ：イーズ N o. 005 (1996)

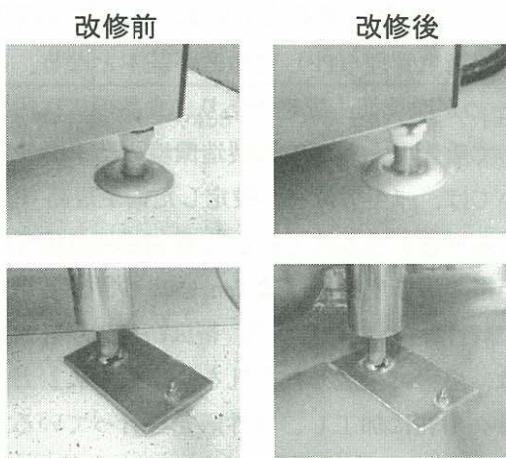


図 2 機器脚部と床の接触面

機器脚部と床の接触面は難乾燥であり、汚染度が高いと思われる。

平成 21 年度 III. 生産流通部門（業務成績関係）

表 3 改修前後の落下細菌数と落下真菌数（開放時間延長）

検査項目	清潔度区分	測定回数	コロニー数*		P 値
			改修前	改修後	
	汚染作業区	6	9 (1~23)	1 (0~2)	< 0.05
落下細菌数	準清潔作業区	8	1 (0~2)	0.5 (0~2)	ns
	清潔作業区	8	4.5 (2~8)	0 (0~2)	< 0.01
落下真菌数	清潔作業区	8	2 (0~3)	0 (0~3)	< 0.05

*：コロニー数は中央値（最小値～最大値）を示す。

3. 結果

改修前後の落下細菌数と真菌数を表 3 に、その判定例を図 3 に示す。両試験期間共に、3 区画全てにおいて基準値（表 1）を大きく下回っていた。特に汚染作業区については、改修前後の落下細菌数が寒天培地あたり 9CFU から 1CFU、さらに清潔作業区では落下細菌数が寒天培地あたり 4.5CFU から 0CFU、落下真菌数が寒天培地あたり 2CFU から 0CFU へ有意に減少した（全て中央値）。また、改修前の落下細菌数は汚染作業区と清潔作業区で検出率が高かったが、改修後は顕著に減少した。

改修前後の Ten Cate の基準による製造室床の汚染度を表 4 に、その判定例を図 6 に示す。改修前の汚染度の平均は、清潔作業区で 1.50（軽度の汚染）であったが、汚染作業区は 2.75（中程度の汚染）、準清潔作業区は 3.38（やや激しい汚染）であった。また、機器脚部や排水ホースと床との接触面は 6 検体全てが測定困難の 5.00（激しい汚染）、排水口近辺は 3.25（やや激しい汚染）であった。改修後は全ての検体で平均 CFU が著減し、汚染度は汚染作業区と準清潔作業区において 1.13（軽度の汚染）、清潔作業区は 0.50（ごく軽度の汚染）に低下した。また機器脚部や排水ホースと床との接触面は 1.38（軽度の汚染）、排水口付近は 0.75（ごく軽度の汚染）と顕著に低下した。なお、大腸菌群については改修前の準清潔作業区床面において 1 コロニー検出されたが、改修後は全てのサンプルで検出されなかった。

4. 考察

落下細菌数は、改修前後で 3 区画全てにおいて衛生規範の基準内であった。シャーレの開放時間延長検査で、改修前の汚染作業区と清潔作業区においてやや検出率が高かったが、改修後は大きく減少した。

表 4 Ten Cate の評価基準による製造室床の汚染度評価

測定個所	汚染度	
	改修前	改修後
汚染作業区床面 (n=8)	2.75	1.13 *
準清潔作業区床面 (n=8)	3.38	1.13 *
清潔作業区床面 (n=8)	1.50	0.50 *
機器脚部、排水ホース接触面付近 改修前 (n=6)、改修後 (n=8)	5.00	1.38 *
排水口近辺 (n=4)	3.25	0.75 *

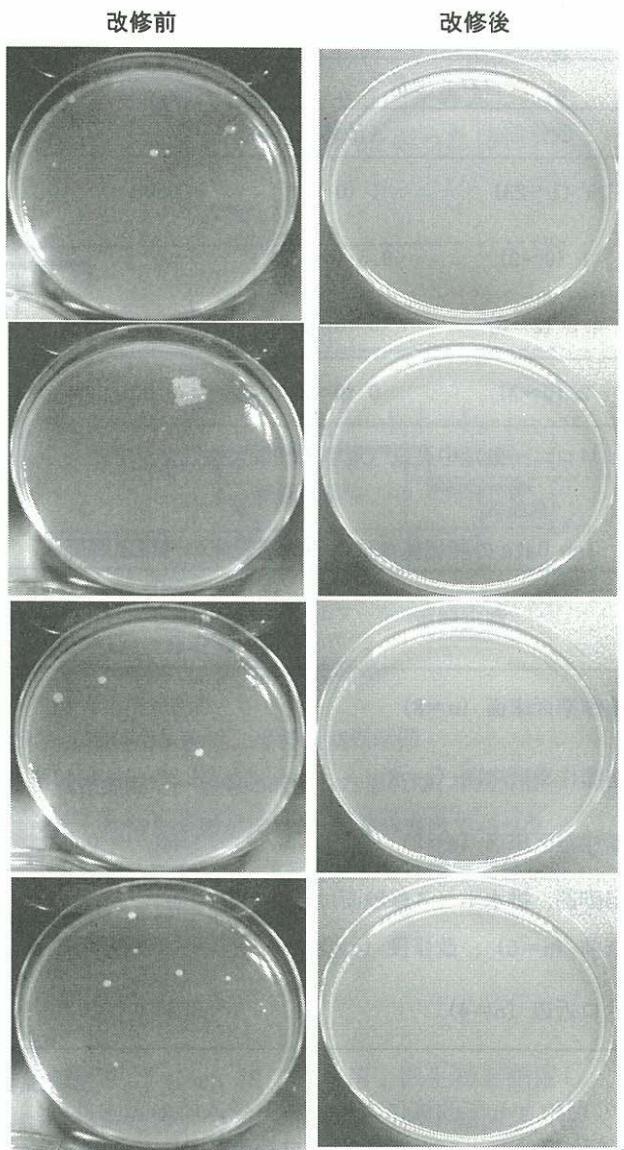
* P < 0.05

この理由として改修による、原料受入時の屋内外の交流排除、およびエアーシャワー導入や、コンベア新設により清潔作業区への作業者と物の出入りや動きを最小限にできたためであると思われた（図 5,7）。また、製造開始前の床面の衛生状態が、改修前（中程度～激しい汚染）と比較し、改修後（軽度の汚染）は大きく改善した。この理由として床材、換気システムの更新により乾燥が促進され、さらに排水口増設により床面の汚染が減少したためであると思われた。以上の結果から、施設改修と作業動線の改善は環境微生物を顕著に減少させ、パック乳製造工程の衛生水準向上に有効であったことが確認された。

謝辞

今回の調査にあたり、乳製品工場担当の石川技能補助員、北山技能補助員と当センターの教職員の皆様にご協力いただき深く感謝いたします。

平成 21 年度 III. 生産流通部門（業務成績関係）



※測定個所は左右それぞれ同一である。

図 3 清潔作業区での開放 時間延長による落下細菌結

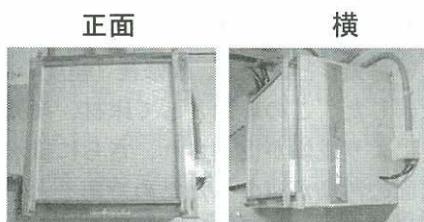


図 4 新設された HEPA フィルター
プレ、中性能、高性能 (HEPA) の 3 種類のフィルターで構成されている。



図 5 新設されたエアーシャワー

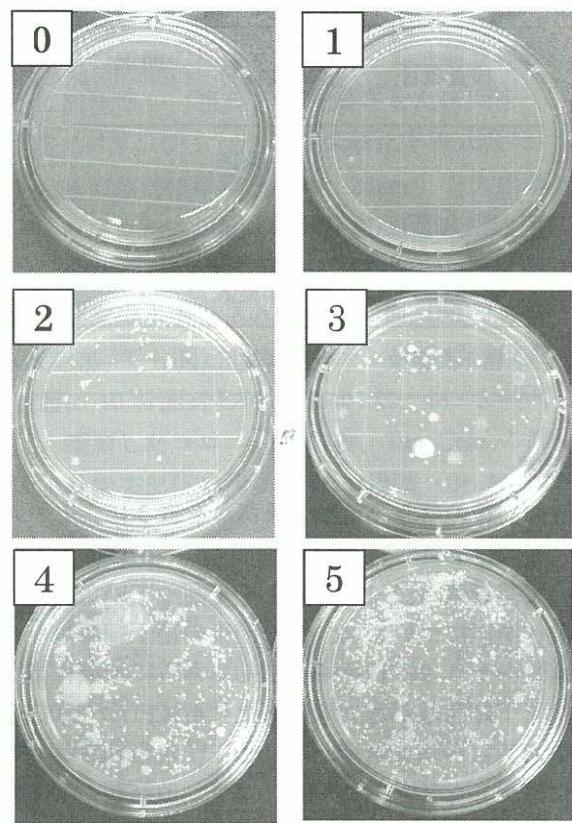


図 6 一般細菌数（標準寒天培地 : 25cm²）の
Ten Cate の評価基準 (0~5) による判定例



図 7 清潔作業区内に新設した自動式コンベア
製造されたパック乳はコンベアにて壁の搬出口 (45 ×
45cm) を通過し梱包室へ運搬される。

参考文献

- 1) 栄研グループ：イーズ No.005 栄研化学 (1996)
- 2) 栄研グループ：イーズ No.013、014 栄研化学 (1999)
- 3) 厚生労働省『弁当及びそうざいの衛生規範』
- 4) 豊福肇 (1998) わかりやすい HACCP 改訂版 (日經 BP 社)
- 5) 食品工場における衛生管理 缶詰技術研究会 (1992)