食品工場の汚染に関する研究

(第4報) C社煮豆工場の微生物について

谷村和八郎*・松本信二*・早坂薫*

浅利喬泰*・三浦二郎*・住江金之*

On the Contamination with Microorganism in Food Factory

Part. IV. On microflora in a cooked beans factory

WAHACHIRO TANIMURA, SHINZI MATSUMOTO, KAORU HAYASAKA,
TAKAYASU ASARI, JIRO MIURA and KINSHI SUMINOE

The microorganisms which were isolated from the accumulations of grime in and around a beans-cooking factory and the intermediate products of processes were investigated. Furthermore, the relationships between the microorganisms isolated from the products and the microflora of the factory were diagnosed.

The microorganisms isolated from each sample were classified into *Azotobacter*, *Bacillus*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhodotorula*, *Torulopsis* and *Saccharomyces*.

The microbial contaminations to the products were greatly influenced by the environments as well as arrangements of factories and the processing controls. (Received Aug. 11, 1964)

食品工場の微生物による汚染についてわれわれはC社煮豆工場内外の設備、並びに環境などの種々な条件下における落下菌の増減や製造工程中の各試料に附着している微生物の汚染度合などを調査し、第1報¹⁾、第3報²⁾に報告してきた。本報においては前2報の際得られた保存菌株、工場周囲における土壤中の微生物および返品中の微生物を分離同定し、微生物と工場並びに環境との関連性について検討した。

実験方法

1. 供試微生物の採取箇所

工場内落下菌と製造工程中の各試料に附着している微生物は昭和41年5月より昭和42年1月までにわたって採取したものをを用いた。土壤試料は当工場周囲の東(道路側)、西(松林側)、南(原料倉庫前)、北(充填室側)の4箇所より採取した。なお、煮豆は白金時を原料としたものである。

2. 検査方法

返品試料、あるいは土壤試料 0.5 g を殺菌水 200 ml

に採り、30分間レシプロ振盪機で振盪したのちこの懸濁液 1 ml ずつをペトリ皿3枚、別に 0.5 ml ずつをペトリ皿2枚に採り、前報と同じ Lindegren's Nutrient Agar 培地を用い、27°C で48時間培養後、菌数を計測し各コロニーについて分離同定を行なった。

耐熱菌は総菌数を計測のため採取した懸濁液の残りを Koch 氏釜で 100°C 5分間加熱後、前記と同じ方法により行なった。菌数の計測値は試料 1 g 中の菌数を示す。

3. 分離菌の同定

分離した微生物は細菌、カビ、酵母に分け細菌は BERG'S Manual of Determinative Bacteriology, 7th Edition および THOMAS H. LARD³⁾、カビは THOMAS and RAPER の分類、酵母は LODDER, J. の The yeast (A Taxonomic Study) に従い同定を行なった。なお、落下菌やそれぞれの分離菌は数万株にもおよびこれら全ての微生物を同定することは困難なため肉眼観察、並びに顕微鏡観察により各コロニーを識別して異なるコロニーを選んで保存し、その後同定した。

* 東京農業大学 (東京都世田谷区桜丘 1-1-1)

Department of Agricultural Chemistry, Tokyo University of Agriculture, Setagaya-ku, Tokyo.

実験結果および考察

1. 月別落下菌について

煮豆工場内落下菌の昭和41年5月より42年1月までの月別分布についての同定結果は細菌を第1表、カビを第2表、酵母を第3表に示した。

各月を通して分布している微生物のうち、細菌は *Azotobacteriaceae*, *Bacillaceae*, *Lactobacillaceae*, *Propionibacteriaceae* の各科で、カビは *Aspergillus*, *Penicillium* の各属、酵母は *Torulopsis*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces* の各属であった。

第1表 落下菌中の細菌

昭和41年5月より

採取月	5	6	7	8	9	10	11	12	1
菌種									
<i>Achromobacteraceae</i>	+				+				+
<i>Azotobacteraceae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Bacillaceae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Brevibacteriaceae</i>	+		+	+	+	+			
<i>Enterobacteriaceae</i>		+	+	+	+			+	
<i>Lactobacillaceae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Micrococcaceae</i>	+	+	+		+	+	+	+	+
<i>Neisseriaceae</i>	+	+	+		+		+		+
<i>Propionibacteriaceae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+

第2表 落下菌中のカビ

昭和41年5月より

採取月	5	6	7	8	9	10	11	12	1
菌種									
<i>Aspergillus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Mucor</i>			+				+		
<i>Penicillium</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Rhizopus</i>		+	+		+	+	+	+	+
<i>Fungi Imperfecti</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+

第3表 落下菌中の酵母

昭和41年5月より

採取月	5	6	7	8	9	10	11	12	1
菌種									
<i>Hansenula</i>		+				+	+	+	
<i>Candida</i>			+	+	+	+			
<i>Pichia</i>		+				+	+		
<i>Rhodotorula</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Saccharomyces</i>		+	+	+			+		+
<i>Torulopsis</i>	+	+	+	+	+	+			+

2. 各製造場所別落下菌について

調査月のうち落下菌総数のもっとも多い10月を選び、倉庫、選別所、加工所、放冷所、充填室など製造場所別の微生物分布を調べ細菌は第4表、カビは第5表、酵母は第6表に示した。

細菌は倉庫と選別所の2個所で細菌総数の約80%を占めており他の3個所の細菌数は6.5~3.8%であった。

第4表 細菌の製造場所別分布(落下菌)

昭和42年10月

製造場所 菌種	倉庫 選別所 加工所 放冷所 充填室 分布(%)	42.3	41.0	6.4	6.5	3.8
<i>Achromobacter</i> (2.6)	3.1	—	—	20.0	—	—
<i>Azotobacter</i> 12.7	11.8	9.3	—	40.0	34.2	—
<i>Bacillus</i> 5.2	3.1	6.3	20.0	—	—	—
<i>Butyrbacterium</i> 18.5	43.7	—	—	—	—	—
<i>Escherichia</i> 7.6	6.1	3.2	40.0	—	31.6	—
<i>Kurthia</i> 17.9	2.8	37.6	20.0	—	—	—
<i>Lactobacillus</i> 1.3	—	3.2	—	—	—	—
<i>Micrococcus</i> 6.7	—	10.0	—	40.0	—	—
<i>Propionibacterium</i> 3.9	5.0	4.4	—	—	—	—
<i>Pseudomonas</i> 10.3	21.3	—	20.0	—	—	—
<i>Staphylococcus</i> 3.6	—	8.8	—	—	—	—
<i>Streptococcus</i> 2.6	3.1	—	—	—	34.2	—
<i>Zymobacterium</i> 7.1	—	17.2	—	—	—	—

第5表 カビの製造場所分布(落下菌)

昭和42年10月

製造場所 菌種	倉庫 選別所 加工所 放冷所 充填室 分布(%)	26.5	26.5	20.6	17.6	8.8
<i>Aspergillus</i> (35.3)	22.3	66.7	42.9	16.0	—	—
<i>Penicillium</i> 20.6	22.2	22.2	—	16.9	66.7	—
<i>Fungi Imperfecti</i> 44.1	55.5	11.1	57.1	67.1	33.3	—

第6表 酵母の製造場所別分布(落下菌)

昭和42年10月

製造場所 菌種	倉庫 選別所 加工所 放冷所 充填室 分布(%)	22.2	38.9	5.6	22.2	11.1
<i>Candida</i> (22.2)	—	57.1	—	—	—	—
<i>Hansenula</i> 5.6	25.2	—	—	—	—	—
<i>Pichia</i> 22.2	—	28.5	—	50.0	0	—
<i>Saccharomyces</i> 22.2	49.6	—	100	—	50.0	—
<i>Torulopsis</i> 27.8	25.2	14.4	—	50.0	50.0	—

製造所で分離された細菌のおもな菌種は *Azotobacter*, *Butyribacterium*, *Pseudomonas*, *Kurthia*, *Micrococcus* の各属であった。

カビは充填室が約 9% であったほか、他の場所は約 20% 前後の値を示している。倉庫、選別所、放冷所には *Aspergillus* 属と *Penicillium* 属がみられ加工所には *Aspergillus* 属、充填室には *Penicillium* 属がみられた。不完全菌は各製造所にかなりみられた。全製造所よりカビの分布をみると不完全菌が 44.1% でもっとも多く、次に *Aspergillus* 属の 35.5%, *Penicillium* 属の 20.6% であった。

酵母の全製造場所における分布は *Pichia*, *Saccharomyces*, *Torulopsis*, *Candida* の各属がおもなものであった。これらは選別所に約 40% を占め、次に倉庫、放冷所、充填室の順に減少しており、加工所は 5.6% ともっとも少なかった。

上記のように細菌、カビ、酵母のいずれも倉庫、選別所にもっとも多く分布しており、加工所、充填室では少なかった。このことは加工所内にある煮熟槽の蒸気が、選別所からくる落下菌を遮断しているためと考えられる。

3. 耐熱菌について

(1) 落下菌中の耐熱菌について

落下菌中の耐熱菌の製造場所分布を第7表に示す。全製造場所より8種の耐熱菌を分離した。そのうちもっとも多い菌は *B. cereus*, *B. subtilis* などの土壌細菌で全耐熱菌の約 50% を占めていた。各製造場所別で見ると加工所に 41.0% ともっとも多く、また *B. alvei* が比較的多く分布していた。選別所は 22.6% の分布で、このうち *B. cereus* が比較的多く分布していた。

これら年間にわたる耐熱菌のうち、とくに四季別として5月、8月、10月、1月の耐熱菌を第8表に示す。これによると8月に約 41% と最高の率を示し、とくに *B. cereus* が多い。5月と1月には約 15% である。すでに第1報に報告したように落下菌総数は10月にもっとも多かったが、10月の耐熱菌数は 29.3% で8月より少なかった。しかし菌種は *B. alvei*, *B. cereus*, *B. pantothenicus*, *B. sphaericus* などで四季のうちでもっとも多く出現した。

(2) 製造工程中の耐熱菌について

昭和41年5月より42年1月までの間における白金時を原料とする煮豆製造中の耐熱菌を調査し、第9表に示した。

各製造工程中の耐熱菌をみると、原料と煮熟前、煮熟

第7表 耐熱菌の製造場所別分布（落下菌）

昭和41年5月～42年1月

製 造 場 所		倉庫	選別所	加工所	放冷所	充填室
菌 種	(%)	分 布 (%)				
		18.2	22.6	41.0	9.0	9.2
<i>Bacillus alvei</i>	13.6	—	—	49.8	—	—
<i>cereus</i>	27.1	24.7	37.5	16.5	50.0	—
<i>circulans</i>	4.5	—	12.4	—	—	—
<i>coagulans</i>	9.2	—	—	33.7	—	—
<i>pantothenicus</i>	9.0	24.7	—	—	50.0	—
<i>pulvificiens</i>	4.5	—	12.4	—	—	—
<i>sphaericus</i>	9.2	—	25.3	—	—	—
<i>subtilis</i>	22.9	50.6	12.4	—	—	100

第8表 落下菌中の耐熱菌

昭和41年5月より

採取月	5	8	10	1
菌種				
<i>Bacillus alvei</i>	—	—	4.4	—
<i>cereus</i>	—	27.8	8.3	—
<i>circulans</i>	—	—	—	5.5
<i>pantothenicus</i>	—	—	8.3	—
<i>pulvificiens</i>	—	—	—	5.5
<i>sphaericus</i>	—	—	8.3	—
<i>subtilis</i>	12.5	13.9	—	5.5

注：表中の数値は5, 8, 10, 1月の耐熱菌を合計したものよりの百分率。

第9表 製造工程中の耐熱菌

昭和41年5月～42年1月

製 造 工 程 菌 種	原 料	蒸 熟 前	蒸 熟 後	製 品
	分 布 (%)			
	30.9	40.7	12.4	16.0
<i>Bacillus alvei</i>	16.0	33.3	—	7.8
<i>cereus</i>	40.0	21.2	60.0	46.1
<i>coagulans</i>	12.0	3.1	—	—
<i>megatherium</i>	4.0	12.1	—	—
<i>pantothenicus</i>	16.0	9.1	—	7.8
<i>subtilis</i>	12.0	21.2	40.0	38.3

後と製品の二群に大別でき、前者は 30.9%, 40.7% であり、後者は 12.4%, 16.0% であった。すなわち原料、煮熟前の取扱いは後の工程に大きい影響を与えると思われる。耐熱菌の種類としては *B. alvei* ほか 8 種類を同定した。これらの菌種のうち各製造場所にみられる菌株は *B. cereus*, *B. subtilis* であり、これらの菌株は落下菌中にも多く見られ、菌学的に一連の関連性がみられる。横田ら⁴⁾も昆布豆製品より耐熱菌を分離、本試料と

共通の菌株も分離されている。

4. 返品中の微生物について

煮豆製品の返品の原因は種々あるが、ここでは明らかに微生物がその原因と思われるものについて分離同定を行なった。

すなわち昭和41年6月に返品された袋詰白金時煮豆のうち、「糸引き」が原因のもの2例、「膨れ」がその原因のもの1例を検体とし調査した。第10表にその結果を示す。

「糸引き」返品について見ると第10表に示したとおり細菌のみが分離され、それは *Bacillus* 属の6種であった。そのうち *B. alvei*, *B. cereus*, *B. licheniformis* については検体Ⅰ、Ⅱともに認められた。

これらの細菌はいずれも工場内落下菌中の耐熱菌(第8表)にも見られるものであり、このことは製造工程中に工場内で汚染されたものが、殺菌行程中で完全に殺菌されずに製品に残り、そのため出荷された後に「糸引き」状態となり返品されたものと考えられる。

「膨れ」返品については酵母のみが分離され、それは *Saccharomyces* 属と *Torulopsis* 属の酵母であった。これは包装のシールも完全でありピンホールも認められな

第10表 返品中の微生物

菌 種	返品の原因		
	返品		
	糸引き Ⅰ	膨れ Ⅱ	膨れ Ⅲ
(細菌)			
<i>Bacillus alvei</i>	+	+	
<i>badius</i>		+	
<i>cereus</i>	+	+	
<i>licheniformis</i>	+	+	
<i>sphaericus</i>		+	
<i>subtilis</i>		+	
(酵母)			
<i>Saccharomyces</i>			+
<i>Torulopsis</i>			+

第11表 土壌中の微生物菌数 (1g中)

		昭和42年2月			
採取場所	微生物	東	西	南	北
		39.0	16.0	19.7	25.3
(%)					
細菌 58.3		42×10^8	17×10^8	19×10^8	16×10^8
カビ 36.0		14×10^8	8×10^8	12×10^8	24×10^8
酵母 4.7		6.8×10	0.8×10	0.7×10	0.8×10

注) 東: 道路側
南: 原料倉庫側
西: 松林側
北: 充填室側

ったので殺菌行程中におけるミスが原因として考えられる。

5. 土壌中の微生物について

工場内の微生物のうち工場周囲よりの汚染が非常に大きいことが考えられるので、当工場周囲4カ所より土壌を採取して、微生物を調査し、その総数を第11表、細菌を第12表、カビを第13表に示した。なおこの土壌採取は昭和42年2月に行なった。このため年間にわたる微生物の消長とはいえないが、この時期における微生物総数は東側が39.0%と一番多い。このことは選別所、加工所の窓側における落下菌、また煮豆製造工程の試料が多いことに関係があると思われる。次に多いのは北側の25.3%でとくにこの個所においてはカビの割合が細菌より多い。次に西側、南側の順に減少している。

土壌中の総菌数のうち、細菌が大部分を占め、そのうち東側がもっとも多く、その他の場所は東側の約1/2であった。菌種は *Bacillus* 属がもっとも多く、次に *Azotobacter*, *Butyribacterium* の各属などが多かった。

カビは工場周辺のうち、北側が $24 \times 10^8/1g$ と一番多く、他の3カ所は北側の約1/2以下であった。これは充填機よりもれる糖液をふいたふきんの洗浄液を、この個所に廃棄しているため、とくにカビが多くなっているものと思う。分離したカビの大部分は不完全菌であり、次に *Penicillium* 属, *Aspergillus* 属, *Mucor* 属の順で

第12表 土壌中の細菌分布

		昭和42年2月			
採取場所	菌 種	東	西	南	北
		44.7	18.0	20.2	17.1
(%)					
<i>Azotobacter</i>	22.8	11.4	65.9	20.5	10.0
<i>Bacillus</i>	47.0	49.6	34.1	31.2	72.5
<i>Butyribacterium</i>	20.0	27.6	—	37.8	—
<i>Kurthia</i>	6.8	11.4	—	8.4	—
<i>Lactobacillus</i>	3.4	—	—	2.1	17.5

第13表 土壌中のカビ分布

		昭和42年2月			
採取場所	菌 種	東	西	南	北
		24.1	13.7	21.0	41.2
(%)					
<i>Aspergillus</i>	6.2	11.4	—	16.7	—
<i>Mucor</i>	11.7	4.3	30.0	—	15.8
<i>Penicillium</i>	20.7	18.6	20.0	16.7	24.2
<i>Fungi Imperfecti</i>	61.4	65.7	50.0	66.6	60.0

あった。

酵母は各場所とも僅少であった。

要 約

C社煮豆製造工程中の各作業所における試料並びに工場周囲の土壤中の微生物について同定を行ない、それぞれの関連性を検討した。

1. 落下菌については昭和 41 年 5 月より昭和 42 年 1 月までに採取した保存菌株を用いた。

(1) 細菌は *Azotobacter*, *Butyrubacterium*, *Pseudomonas*, *Kurthia* の各属が主で、これらの菌は原料倉庫、選別所だけで 80% 以上も占めている。

(2) カビは充填室の 8.8% を除いては各個所とも約 20% の割合で、*Aspergillus* 属、*Penicillium* 属がおもなものであった。

(3) 酵母は僅少であるが *Torulopsis* 属、*Saccharomyces* 属などで、とくに選別所に多かった。

(4) 耐熱菌は *B. cereus*, *B. subtilis* などが主で、加工所に 33.2% ともっとも多かった。

(5) 月別分布では 5, 6 月と 10 月に多かった。

2. 各製造場所別の試料中耐熱菌は、*B. subtilis*, ほかに 7 種であった。

3. 返品の原因が「糸引き」のものについては、何れも *Bacillus* 属で 6 種を分離した。これらは工場内落下菌中

の耐熱菌と一致していた。「膨れ」については *Saccharomyces* 属と *Torulopsis* 属が分離された。

4. 工場周囲の土壤中における微生物は東の道路側が最も多く、次に北の充填室側、西の松林側、南の原料倉庫側の順であった。

(1) 総菌数中、細菌は *Bacillus* 属が一番多く、次に *Azotobacter* 属、*Butyrubacterium* 属、*Kurthia* 属などであった。

(2) カビの大部分は不完全菌であったが、そのほかに *Aspergillus* 属、*Mucor* 属の順で、細菌や酵母とは異なり北の充填室側に多かった。

(3) 酵母は僅少であった。

終りに臨み御協力を頂いた C 社煮豆工場並びに戸谷邦夫、赤尾高明の両氏に感謝致します。

文 献

- 1) 住江金之・谷村和八郎・浅利喬泰・三浦二郎・松本信二・柳田藤治・高村幸司：食品工誌，13，(11)，459 (1966)。
- 2) 谷村和八郎・浅利喬泰・三浦二郎・松本信二・早坂薫・住江金之：食品工誌，14，(12)，541 (1967)。
- 3) Lard, T.H.: Determinative Bacteriology Laboratory Manual.
- 4) 横田 進・大橋藤五郎・砂川精作・島野 卓・林孝市郎：食品工誌，15，(6)，233 (1968)。