市乳の微生物に関する研究

第4報 びん装市乳の製造工程における各種細菌群の消長 —2

(昭和44年9月6日受理)

浜本典男* 金内稔郎*

Microbiological Studies on Market Milk

IV. On the Psychrotrophic Bacterial Contamination
into Head Tank Contents

Michio HAMAMOTO and Toshiro KANAUCHI

(Research Laboratory, Snow Brand Milk Products Co. Ltd.:
3-27-1, Akabane Kita, Kita-ku, Tokyo)

Quantitative and bacteriological analysis were made on plant air and flow-back milk, in order to reveal the sources of contamination at the head tank, where the first stage of psychrotrophic bacterial contamination had been recognized in the bottling process of market milk.

Air inhalation and milk flow-back through air pipes were found to take place at the head tank in vacuum filling system, and it was found that 280~760 L of air was inhaled in a minute from the outside of bottling machine and 0.68~1.15 L/min of flow-backed milk was mixed into head tank contents, during c. a. 200 bottlings of 180 ml market milk.

In case psychrotrophic bacteria were found in number of 7800/L in the flow-backed milk, 4~130 (average 41) in the 10 L plant air and the milk volume passing through the head tank was 37 L/min, these kinds of bacteria also could be demonstrated in number of 140~250/L in the head tank contents.

These results suggest that almost a half of all psychrotrophic contaminants in the head tank might have been derived from the flow-backed milk, so the flow-back milk is regarded as one of the important source of contamination.

On the air-borne bacteria, if all the psychrotroph present in incoming air of bottling machine were caught by milk, the number of contaminants would not be supposed to reach the contamination level of head tank contents.

From the results of bacteriological determination in several plants, it was confirmed that smallness in number of psychrotroph in flow-back milk and plant air resulted in less contamination level of head tank contents. And it was presumed that the psychrotroph contamination level above 6/L in head tank contents gave the psychrotroph positive in all the bottled products.

(Received September 6, 1969)

緒言

前報¹⁾では、びん装市乳の製造工程について各種細菌数の変化を検討し、サージタンク、パイプラインに起因する細菌汚染量はきわめて少ないこと、製品に存在する低温菌の大部分は充てん工程で混入することなどを報告し、この原因が充てん機の構造上の欠陥に基づくものと推定した。

現在、一般に使用されている充てん機では、上部に付属するヘッドタンク内の殺菌乳を、落差によってびんに落し込むので、空びん中の空気を外部に排出しながら乳を充てんしなければならない。この際の空気の通路としては、ノズル末端からヘッドタンク内部に開口するエアパイプを経てヘッドタンク内に入り、真空ポンプで機外に排出されるが、このような構造のため充てん機内部は陰圧に保たれる。したがって空びん中の空気ばかりで

* 雪印乳業技術研究所：東京都北区赤羽北 3-27-1

なく、びんと接触していないノズルからは、処理場内の空気が充てん機内に常に流入している。また充てん中のエアースパイブの中には、ヘッドタンクと同水準まで牛乳が入り、この乳は、ノズルがびん口部を離れる際にヘッドタンク内に戻り、還流が生じている。

本報では、充てん段階の低温菌汚染の一因として、低温菌の一部が、処理場内の空気、還流乳などとともに、ヘッドタンク内容に混入する経路を確認し、さらにこの汚染量の実態を検討した結果を報告する。

実験方法

1. 試験対象工場

エアースパイブ還流乳量、充てん機の空気吸引量などは、雪印乳業(株)のT工場で検討したが、汚染の実態についてはさらに、N, O, H, K工場なども検討対象とした。

2. エアースパイブ還流乳量

180 ml 容のびん装市乳を、1時間あたりに1.2万本充てんするA社製充てん機3台と、同能力を有するB社製充てん機1台、計4台を測定対象とした。エアースパイブからヘッドタンク内に戻る乳(ここでは還流乳と称する)の量は、ポリエチレン製捕集びん(内容500 ml)をエアースパイブ上部にゴム管で接続し、平常の充てん作業によって、びん内に捕集された量を測定して、市乳びん1本あたりの還流乳量を求めた。

3. 充てん機の空気吸引量

充てん機が吸引する空気の量は、真空ポンプの総排気量から、空びんに由来する量を差し引いて求めた。総排気量は、真空ポンプの排気管に同径のビニールパイプを接続し、あらかじめ容積を測定し、水中に倒立した牛乳輸送かん(40 L)に排気を導入し、空気40 Lを捕集するのに要した時間から、単位時間の排気量として求めた。空びんに由来する空気量は、充てん速度と市乳びん内容積(0.18 L)から求めた。

4. ヘッドタンク内容乳量

ヘッドタンク内に、平常運転時の牛乳面に達するまで水を入れ、その容量を測定して、ヘッドタンク内容乳量とした。

5. エアースパイブ還流乳、ヘッドタンク内容乳の低温菌数

イ) 試料の採取 エアースパイブ還流乳は、殺菌した前記捕集びん5~6個を使用し、平常の充てん作業の下で20~25分を要して、合計2 L量を採取し、試料とした。

ヘッドタンク内容乳は、還流乳の採取前あるいはポリびん脱去時に、2 L量を採取し、試料とした。

ロ) 低温菌数の測定 著者らの既報²⁾の方法により、M.P.N.値を算出して求めた。

6. 空気中の浮遊低温菌数

イ) 試料の採取 直径47 mmのミリポアフィルター-HA(孔径 $0.45 \pm 0.02 \mu$)を内蔵するガラス製ホルダ

ーを用い、10 L量の空気を、34~40秒を要して、ロータリーポンプで吸引採取し、1試料とした。

ロ) 低温菌数の測定 空気吸引を行なったミリポアフィルターは、乳製品用標準寒天培地平板にはり付け、7°で7日間培養し、生育した集落を計数して、空気中の浮遊低温菌数とした。

実験結果ならびに考察

I. 充てん機の還流乳量と空気吸引量

Fig. 1にヘッドタンクの還流現象、空気吸引とともに捕集びんの装着状態を示す。

T工場の充てん機4台について、還流乳量を測定した結果はTable 1に示す。

No. 1 充てん機では、捕集びんを装着したノズルが50本の市乳を充てんする間に、200~240 ml(平均217.8 ml, $n=6$)の乳が、またNo. 2では250~265 ml(平均259.2 ml, $n=5$)、No. 3では245~260 ml(平均252.5 ml, $n=6$)、No. 4では133~190 ml(平均164.5 ml, $n=6$)の還流乳が捕集された。この数値より市乳びん1本を充てんするに際しての還流乳量を計算すると、たとえばNo. 1では4.36 mlとなり、充てん乳量180 mlに対しては、2.4%に相当する。

還流は、Fig. 1に示すごとく、びん口部まで牛乳が充てんされた後に、ヘッドタンクの牛乳面までエアースパイブ中に牛乳が入り、ついでノズルがびん口部を離れる際に、陰圧になっているヘッドタンク内に戻ることににより、生ずると考えられる。したがって還流乳量は、ヘッドタンクに内蔵するフロートによって、自動的に調節される牛乳面から、ノズル末端までの長さ、エアースパイブの径によって定まる。Table 1の結果で、A社製の充てん機(No. 1~3)による還流量が、B社製(No. 4)のものより多いのは、牛乳面からノズル末端までの長さの差異によると考えられた。

Table 2に、吸引空気量の測定結果を示す。

No. 1 充てん機を例にとると、平常運転時にポンプ排気40 Lを捕集するのに、平均5.0秒($n=4$)を要したことから、500 L/minの排気が認められ、吸入空気の総量を示した。またこの充てん機は、216本/minの割合で充てんするので、空びんに由来する空気量は39 L程度となる。したがって、No. 1 充てん機が処理場内から吸引する空気量は、461 L/min、1本あたりに換算すると2.1 Lである。この吸引空気量は、充てん乳量の8~12倍に相当する。この処理場内からの空気吸引量の全部が、エアースパイブを通じてヘッドタンクに流入するとはいえず、たとえば充てん機回転軸のすり合わせ部分などから、若干の空気が流入することも考えられる。しかしエアースパイブ以外に起因する吸引量は、比較的小さいものと推定される。

なお充てん機の吸引空気量は、当然のことながら、充てん機の型式、真空ポンプの稼動状態などによって変化

Fig. 1. Milk flow-back, air inhalation at head tank of bottling machine and trap-bottle of flow-backed milk

(1)~(5) show the progress of stages of bottling
(6) shows fixing of the trap-bottle

Table 1. Milk Flow Back through Air Pipes to Head Tank of Bottling Machine

Bottling machine No.	1	2	3	4
Maker	A	A	A	B
Nominal capacity	180 ml×12000/hour			
Trapped milk volume after 50 bottlings (ml)	217.8	259.2	252.5	164.5
Average volume of flow-backed milk per 1 bottle (ml)	4.36	5.18	5.05	3.29
% of flow-backed milk to bottling volume	2.4	2.9	2.8	1.8

Table 2. Air Inhalation of Bottling Machine

Bottling machine No.	1	2	3	4
Exhaust air from vacuum pump (L/min.)	500	480	800	321
Bottling quantities of 180 ml market milk (bottles/min.)	216	215	216	206
Air derived from milk bottles (L/min.)	39	39	39	37
∴ Inhalation from plant air (L/min.)	461	441	761	284

すると思われるが、ポンプ圧を一定限度以下に下げると、充てん操作は困難となるので、吸引量を0にするこ

とはできない。なお Table 1 に示した測定の際のポンプ圧は、減圧度として、30~70 mmHg であった。

以上の結果、試験対象とした充てん機は、1分間にそれぞれ200本程度の市乳をびん装充てんするが、この間に0.7~1 Lの還流乳がヘッドタンク内容乳に混合し、また処理場内からは300~700 Lの空気が流入している。したがって、180 ml 容市乳1本に対しては、3~5 mlの還流乳が製品に混合し、1.4~3.5 Lの処理場内空気が乳に接触することとなり、この量は充てん乳量に対し、それぞれ2~3%、8~20倍に相当する。

II. 還流乳の低温菌数、空気の浮遊低温菌数

充てん段階の低温菌汚染と、充てん機の還流現象、空気流入との関連性を検討する目的で、T工場のNo. 4充てん機について実施した。

測定結果は、Table 3 に示す。

還流乳、および還流乳採取前と採取後のヘッドタンク内容乳の低温菌数は、表中に示したとおりであり、また充てん機の周囲の空気については、周辺の適当と思われる個所24区分を調べ、試料各10 Lから4~130の低温菌が検出された。

No. 4 充てん機のヘッドタンク内には、常時72 L程度の乳が存在し、206本/minの充てん速度である。したがってタンク内には、37 L/minの割合で連続的に乳が流入、流出しているが、この間0.68 L/minの還流乳が、タンク内容乳に混入している。

そこで、新たに流入する乳37 Lに還流乳0.68 Lが

Table 3. Psychrotrophic Bacterial Counts of In-line Milk and Air Samples—1

Milk samples	Psychrotroph counts
Taken from the head tank, before taking up flow-back milk	140/L
Flow-backed milk from the air pipes	7800/L
Taken from the head tank, after taking up flow-back milk	250/L
Air samples (/10 L air)	51, 83, 18, 22, 5, 34, 8, 9, 4, 62, 39, 56, 58, 29, 130, 39, 26, 46, 27, 29, 70, 72, 50, 24 (average 41.3)

混和すると考えると、Table 2 の結果から、還流乳は 7800/L の低温菌を含むので混入する低温菌の総数は 5300 となり、143/L の割合で汚染する計算となる。この菌数と、実際にヘッドタンク内容乳で測定された菌数 140~250 とは、ほぼ一致しており、したがってヘッドタンクの低温菌のうち、かなりの部分が還流に由来すると考えられ、重要な汚染経路の 1 つである。

空気中の低温菌については、10 L 中に 4~130 の菌を含み、1 分間の吸引量は 284 L であるから、37 L の流入乳に対し、110~5000 の低温菌が乳に接触する機会を有したことになり、還流乳汚染菌の一部は空気から移行したものと想像される。しかし吸入した空気細菌のうち、タンク内容に捕捉される割合は不明で、この点についてはなお検討の余地がある。

III. 他工場における確認

T 工場で得た結果を確認するとともに、低温菌汚染の実態を把握する目的で、O, N, K, H の 4 工場におい

ては、2.4 万本/時 充てん機を対象に、充てん機入口のパイプ内から採取した乳、ヘッドタンク内容乳、還流乳、びん装製品乳、周辺空気などについて測定した。低温菌数は、Table 4 に示すとおりである。

これら 4 工場の還流乳量、吸引空気量などは測定しなかったもので、充てん量に対する量的な関係は明らかでないが、同一仕様の充てん機について検討を行なったので、吸引圧力などによって変化する空気量はともかく、充てん量とタンク内容乳量、還流乳量などの比は、ほぼ一定とみなされる。

ヘッドタンク内容乳と還流乳低温菌数の関連については、還流乳に著しく多数の低温菌が認められた H 工場の例を除くと、還流乳菌数の少ない工場では、ヘッドタンク内容乳の菌数も少なく、還流乳菌数の多い工場では、タンク内容乳の菌数が多くなる傾向が認められた。

還流乳の低温菌数と空気の浮遊低温菌数との関係については、II 項で述べたごとく捕捉率が不明であるが、浮遊低温菌数の少ない O 工場では還流乳菌数も少なく、浮遊菌数の多い N 工場では多くなっている。なお、T 工場と O, N 工場では、充てん機の仕様が異なるので、比較することはできない。

タンク内容乳菌数とびん装製品では、K 工場ではタンク内容 1 L に 140 の低温菌が見出されたものが製品では 160、H 工場では 22 が 58 に増加するにすぎなかった。すなわちこの結果では、製品汚染量に対するタンク内容段階の汚染度が高く、前報¹⁾に示されたごとく、次工程以後の汚染量も著しく多い例とは異なる。しかし、Table 3 および Table 4 の結果によると、ほとんどのタンク内容乳には、1 L あたりに 6 個以上の低温菌が計数されており、したがって次工程汚染量のいかにかわらず、タンク内容段階ですでに、びん装製品 1 本あたりに個以上の割合で低温菌が混入するのであり、この意味に

Table 4. Psychrotrophic Bacterial Counts of In-line Milk and Air Samples—2

Milk samples	Psychrotroph counts			
	Plant O	Plant N	Plant K	Plant H
Drawn from the delivery pipe before bottling machine (/0.5 L)	—	—	0	0
Taken from the head taken, before taking up flow-back milk (/L)	20	66	140	22
Flow-backed milk from the air pipes (/L)	38	470	940	2200
Taken from the head taken, after taking up flow-bdck milk (/L)	2	36	—	—
Bottled products (/L)	—	—	160	58
Air samples (/10 L air)	0, 4, 0, 0, 0	30, 21, 231, 80, 156, 53		

において重要な段階と考えられる。

ヘッドタンク内容乳に生ずる汚染については、種々の汚染源、汚染経路が考えられるが、乳に接触する機器の洗浄殺菌不完全、あるいは操作中の作業員の手指などから、一時的な大量汚染が生じたとしても、現在採用されている高速度の充てん機では、低温菌がほとんど存在しない乳が、毎分 36 L (1.2 万本/時 充てんライン)あるいは 72 L (2.4 万本/時 充てんライン) の速度でヘッドタンクを通過することにより、テトラパック包装工程で認めたような、洗い流し現象¹⁾が生ずると思われる。すなわち、今かりに流入乳が内容乳に完全混合しながら充てんされるとし、内容乳量をそれぞれ 72 L (1.2 万本/時)、116 L (2.4 万本/時) と仮定すると、4.6 分、4.0 分後には、菌数が 1/10 に減少する計算となり、比較的短い時間内に汚染菌は内容乳に検出されなくなると思われる。しかし大塚ら³⁾は、充てん開始時に滅菌びんを使用して充てんしたものには、低温菌がほとんど検出されないのに対し、充てん操作を 5 分位継続した後はかなり高い検出率を示し、以後検出率はほとんど変わらないことから、実際には洗い流し現象は認められないとしており、したがって一時的に生ずる汚染よりも、連続的に発生する汚染原因が重要視される。

市乳製品に存在する低温細菌については、ごく一部のもの^{4)~6)}を除くと、一般に加熱処理に対し敏感で^{7)~14)}、従来の殺菌工程でもほとんど完全に死滅すること^{12)~14)}などから、U.H.T. 処理によって残存する可能性はほとんどなく、殺菌処理以後の二次汚染による^{12)~20)}とされている。

また低温菌汚染が、工程のどの段階で生ずるのかについては、Thomas ら¹¹⁾、小川²¹⁾の検討結果や、著者らの前報¹⁾から、サージタンク、パイプラインに起因する汚染量は少なく、目立った汚染が生ずるのは、充てん機以後の段階であることが認められている。

この二次汚染原因について、機器、水、空気などに低温菌の存在を示し^{5) 13) 21)~26)}、これらを汚染源と推定する検討は多いのであるが、汚染成立の機構や汚染経路について、より具体的に示された実証的な結果は、本邦においては、田中ら²⁷⁾の研究例があげられる。

田中ら²⁷⁾は、びん送りに用いられるコンベアーの運転中に生ずる飛まつを紙に受けることによって、充てん中にはかなりの飛まつが生ずることを、またヘッドタンクにアルカリ液を満たし、充てん機付近でフェノールフタレイ液を噴霧すると、アルカリ液が赤色を帯びることによって、操作中に生ずる飛まつ、処理場内空気などが、連続的にヘッドタンク内容に移行することを証明している。なお還流が生ずる現象については、田中らも著者らの方法を応用して検討している。

これら連続的な汚染原因の具体的な 1 例として、本報では還流乳を検討したが、Table 1 の結果では、充て

ん乳量に対し 2~3% 程度の乳が、エアーパイプを通じてヘッドタンク内に連続的に還流しており、かつ Table 3 および Table 4 の結果では、この還流乳に存在する低温乳の数が著しく多いのを認め、さらに汚染量の計算からは、タンク内容乳に存在する低温菌のうち、還流乳に由来するものの割合がかなり多いことなどから、還流はヘッドタンク内容に対する重要な汚染経路の 1 つと考えられた。またヘッドタンク内容乳に存在する菌数と、還流乳菌数との関係については、Table 3 でも Table 4 の結果でも、還流乳採取の前後で 20 分程度をへだてて測定したタンク乳の菌数は、それぞれ各工場で大きな変化を示さないことから、タンク乳の菌数は、流入乳量と還流乳などの連続的な汚染との間に成り立った、平衡の結果と考えられた。

還流乳汚染菌の由来については、Table 2 の結果からは、毎分 280~760 L の処理場内空気が充てん機に流入しており、一部は空気中の細菌から移行するものと思われる。空気細菌の汚染源としての検討は、落下細菌数によって測定された例^{21) 26)~28)}はあるが、より直接的、実証的な方法として、浮遊細菌によって検討した例は比較的少ない。Heldman らは、製乳工場の浮遊細菌を測定し 1 ft³ あたりに 8~45、平均 26 の細菌を認め²⁹⁾、空気細菌による汚染の重要性について述べている³⁰⁾。Table 3 の結果では、10 L の空気中に 4~130、平均 41 の低温菌を認めたが、Heldman ら²⁹⁾の結果と比較すると、かなり高い計数値を示しており、この原因の 1 つは、飛まつにより生じた小滴中の細菌も、計数されたことによると思われる。空気細菌による汚染量については、Table 3 の結果から、10 L の空気中に 41 個の低温菌が存在するとし、捕捉率を 100% としても、還流乳 1 L 中には 1700 程度の低温菌しか汚染しない計算となり、還流乳の実測菌数 7800 には及ばない。したがって当然のことながら、還流乳には空気だけでなく移行するわけではなく、他の汚染源、たとえば、ノズルパッキング、びん口などから移行する経路も考えなければならない。しかし、T 工場の No. 4 充てん機では 10 L の空気から 7.3 個以上の低温菌が、また No. 3 充てん機では 2.8 個以上の割合で捕捉されると、全部のびん装乳を汚染できる計算となり、この観点からは、処理場内空気中存在する低温菌、つまり汚染の機会を有する低温菌の数はかなり多く、無視しえない汚染源の 1 つとみなされる。なお Table 3, Table 4 に示した実験では、参考までに落下低温菌数も測定したが、浮遊細菌の多寡とは一致せず、この両者には一定の関係が認められなかった。

要 約

びん装市乳の充てん工程のうち、低温菌汚染が認められる最初の工程段階として、充てん機のヘッドタンク内容乳の汚染原因について検討した。

バキューム式充てん機では、エアーパイプを通じて、

ヘッドタンク内に注入される牛乳の還流現象, および処理場内空気の流入が認められる。還流乳 1 L あたりに 7800, 処理場内空気 10 L 中に 4~130 (平均 41) の低温菌が検出された場合には, ヘッドタンク内容乳 1 L あたりに 140~250 程度の汚染が認められ, 流入乳量と汚染量の関係から, 還流による汚染経路が重要と考えられた。また空気に存在する菌については, 乳に捕捉される割合を 100% としても, タンク内容乳汚染量には及ばなかった。しかし還流乳汚染菌の一部は, 空気に由来すると推測されることから, 処理場内空気の浮遊細菌は, 無視しえない汚染源の 1 つと考えられる。

これらエアープイプ経路の汚染については, 還流乳菌数, 空気浮遊菌数の少ない工場では, ヘッドタンク汚染菌数も少ないことにより確認し, さらにヘッドタンク内容の汚染は, この段階を経ることによって, ほとんどのびん装乳に低温菌が混入する程度の汚染量を有することを認めた。

なお本報の要旨は, 畜産試験場開場 50 周年記念畜産学シンポジウム (昭和 41 年 11 月, 千葉) にて発表。

文 献

- 1) 浜本典男, 金内稔郎: 食衛誌. **7**, 409 (1966).
- 2) 浜本典男, 金内稔郎: 食衛誌. **7**, 20 (1966).
- 3) 大塚義一, 他: 未発表
- 4) J. J. Jezeski, H. Macy: J. Dairy Sci. **29**, 439 (1946).
- 5) I. E. Erdman, H. R. Thornton: Can. J. Technol. **29**, 232 (1951).
- 6) J. N. Larkin, J. L. Stokes: J. Bact. **94**, 889 (1967).
- 7) R. B. Parker, et al.: J. Milk Food Tech. **16**, 136 (1953).
- 8) O. W. Kaufmann, R. H. Andrews: J. Dairy Sci. **37**, 317 (1954).
- 9) R. A. Chaudhary, et al.: ibid. **43**, 1774 (1960).
- 10) C. V. Sekher: Ind. J. Dairy Sci. **3**, 173 (1950).
- 11) S. B. Thomas, et al.: Dairy Eng. **77**, 438 (1960).
- 12) F. A. Rogick, L. H. Burgwald: J. Dairy Sci. **33**, 403 (1950).
- 13) F. A. Rogick, L. H. Burgwald: J. Milk Food Tech. **15**, 181 (1952).
- 14) J. C. Olson Jr., et al.: ibid. **16**, 213 (1953).
- 15) R. H. Andrews, O. W. Kaufmann: J. Dairy Sci. **36**, 570 (1953).
- 16) J. C. Olson Jr., et al.: ibid. **36**, 817 (1953).
- 17) H. V. Atherton, et al.: ibid. **36**, 570 (1953).
- 18) N. C. Angevine: ibid. **42**, 2015 (1959).
- 19) J. G. Clark: Dairy Ind. **28**, 40 (1963).
- 20) P. R. Elliker, et al.: J. Milk Food Tech. **27**, 69 (1964).
- 21) 小川益男: Jap. Food Sci. **51**, 66 (1966).
- 22) H. F. Long, R. T. Corley: J. Bact. **44**, 255 (1942).
- 23) S. B. Thomas: J. Soc. Dairy Tech. **2**, 224 (1949).
- 24) J. E. Hunter: J. Milk Food Tech. **17**, 43 (1954).
- 25) L. G. Harmon: ibid. **20**, 196 (1957).
- 26) 村田 章, 他: 食品衛生研究 **18**, 146 (1968).
- 27) 田中錠太郎, 他: 食品衛生研究 **19**, 705 (1969).
- 28) H. C. Olson, B. W. Hammer: J. Dairy Sci. **17**, 613 (1934).
- 29) D. R. Heldman, et al.: J. Milk Food Tech. **27**, 245 (1964).
- 30) D. R. Heldman: Am. Dairy Rev. **30**, 38 (1963).