

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

「国際的な動向を踏まえた乳及び乳製品の衛生管理及び試験法確立のための研究」

分担総合研究報告書（平成 30 年～令和 2 年）

国内小規模乳製品製造施設の衛生実態に関する研究

研究分担者 山崎栄樹 国立大学法人帯広畜産大学
動物・食品検査診断センター
研究協力者 倉園久生 国立大学法人徳島大学
研究支援・産官学連携センター
奥村香世 国立大学法人帯広畜産大学
獣医学研究部門

研究要旨：小規模施設で製造される乳及び乳製品は、比較的簡易な施設で製造されているにもかかわらず通信販売等を通じて国内に広く流通している事例も多く、本邦の乳及び乳製品に関わる衛生管理を考える上で注視が必要である。本研究では国内製造施設の実態に適合する衛生管理手法の確立を目的とし、乳及び乳製品の主要な生産地である北海道にて、小規模製造施設を対象とした衛生検査実態の調査を行った。加えて、小規模製造施設の自主検査及び製造形態の実情を加味して、簡易検査法の有用性及び管理基準として用いる衛生指標菌種の妥当性についての検討を行った。小規模施設における衛生検査実態の調査においては、小規模施設内で実施可能な衛生検査が非常に限られたものである実態が明らかとなり、小規模施設衛生管理において簡易検査法が担う役割の重要性が強く示された。加えて、各施設の検査設備の脆弱性から、その運用方法についての問題点も抽出され、簡易検査法を採用した標準試験法の整備においても、施設ごとの実情に適応した簡易検査法の運用方法について提示する必要性も示唆された。脆弱な設備環境下で簡易検査法を用いた際の検査結果の妥当性について検討する目的で試験結果に設備条件が与える影響を検討した結果、恒温槽等を用いた精確な温度管理が難しい試験条件下においても簡易検査法を用いて適切な結果が得られることが明らかとなり、小規模施設における簡易検査法の有用性が示された。小規模製造施設の製造形態をモデルとして実施した多様な性状の生乳に対する加熱処理後の衛生指標菌検査においては、大腸菌群数と腸内細菌科菌群数の加熱時間に対する減少率に良好な相関が見られた。これらの結果は、小規模製造施設で製造された製品に対して腸内細菌科菌群を衛生検査指標として用いることの妥当性を示す結果であると考えられる。これらの知見は今後、国内で整備が進む HACCP の制度化及び、国際的整合性を担保した形での乳及び乳製品の製造工程管理及び、製品の安全性確保に向けた微生物規格基準及び試験法を設定する上で国内の各種事業形態に適応した実行性のある試験法の整備に貢献するものであると期待する。

A. 研究目的

食品の衛生に関する国際的整合性の整備は食品流通のグローバル化が進む現代社会において喫緊の課題であり、国内においても国際的整合性をもった食品微生物基準を策定するための取り組みが進められている。これまで、国内の微生物規格基準及びそれらの試験法は過去に食中毒事例が多く見られた食品を中心に、国内の食習慣や製造環境に合うように独自に整備されてきた。しかしながら、上記の理由から、本邦で採用される試験法についても国際的に利用されている試験法とのハーモナイゼーションに対する要求が増しており、食品流通のグローバル化を意識した試験法の整備が急務の課題となっている。

現在、わが国の乳及び乳製品については、昭和26年に発令された「乳及び乳製品の成分規格等に関する省令」（乳等省令）に基づき、生菌数と大腸菌群を微生物規格とした法規制が敷かれている。一方、EU諸国等では、HACCPによる工程管理を前提として、腸内細菌科菌群やβグルクロニダーゼ陽性大腸菌等を衛生指標として用いた衛生管理が行われている。国内においては近年、平成30年の食品衛生法改正の中で示されたHACCPの制度化をはじめとした食品流通のグローバル化に対応した取り組みを行っているが、食品衛生管理を行う上では製造工程の管理に加え、衛生指標に用いる微生物種の妥当性やその試験法についても国際的整合性についての考慮が必要である。

本研究では、乳及び乳製品製造の主要な地域である北海道において、小規模製造加工施設における製造基準や自主管理基準の評価を行うと共に、国内流通製品の衛生

実態に関する知見の収集を行い、国内で流通する製品及び、それらを製造する施設の製造工程及び衛生管理実態の把握を目的とした。北海道においては国内の他の地域と比較して、大規模な施設に加え小規模製造加工施設が多く存在し、広域流通しない乳及び乳製品も多く販売されている。しかしながらこれらの製品の一部は北海道ブランドの名のもとで通信販売等を通じて国内に広く流通しており、加えて、観光業が盛んな北海道においては、小規模流通製品も海外からの旅行者を含む多くの消費者へ影響を与えることが懸念される。本研究においてはこれらの理由から、北海道に多くみられる小規模製造加工施設を調査対象とした。

初年度の研究では北海道において低温殺菌牛乳を製造する施設を対象として、次年度の研究ではアイスクリームを製造する施設を対象として事業者の協力を得て調査を実施し、小規模施設における製造工程管理及び衛生検査実態の調査を行った。加えて、小規模製造施設の自主検査実態を加味して、簡易検査法の有用性について考察を行った。最終年度には前年度までの調査で得られた小規模製造施設の製造形態に関する知見を加味した上で、小規模製造施設で製造された製品に対する衛生指標菌種の妥当性についての検討を行った。

B. 研究方法

1. 製造工程管理及び衛生検査実態の調査対象施設

低温殺菌牛乳製造施設については、北海道内で低温殺菌牛乳を製造・販売する小規模事業者（十勝地方2社、上川地方1

社)について調査を実施した。調査においては、製造地域での販売に加え、通信販売・業務用販売を含めた道外での広域販売を行っている事業者を選定した。各施設について、製造規模を含めた施設概要、製造工程、各施設で実施される自主検査項目について、施設見学及び聞き取り調査を実施し、製造工程管理実態及び衛生管理実態を取りまとめた。

アイスクリーム製造施設については、北海道内でアイスクリームを製造・販売する小規模事業者(十勝地方2社、石狩地方1社)について調査を実施した。調査においては、低温殺菌牛乳製造施設と同様に、製造地域での販売に加え、通信販売・業務用販売を含めた道外での広域販売を行っている事業者を選定し、各施設について、製造工程、各施設で実施される自主検査項目について、施設見学及び聞き取り調査を実施し、製造工程管理実態及び衛生管理実態を取りまとめた。

2. 乳及び乳製品衛生検査

2-1. 試料概要

低温殺菌牛乳については、調査対象施設のうち2施設より生乳及び低温殺菌牛乳を入手した。何れの試料においても、輸送中を含め採取及び製造から検査までの間、5℃以下で保管されていた事を確認し、低温殺菌牛乳については賞味期限日に検査を実施した。

アイスクリームについては、調査対象施設の全てより様々なフレーバーのアイスクリーム製品を通常の販売ルートを利用して入手した。試料は受け入れ後に検査まで-30℃にて保管し、検査に際しては約20gを無菌的に量り取った後に、23℃のインキ

ュベーター内に40分間静置することで融解し、融解物を滅菌生理食塩水で10倍希釈したものを用いた。

2-2. 細菌検査法概要

生乳、低温殺菌牛乳及びアイスクリーム試料に対して、腸内細菌科菌群数、生菌数、大腸菌群数、大腸菌数について、培養法と簡易培地法を用いた検査を以下の概要で実施した。

2-2-1. 腸内細菌科菌群数検査概要

培養法においてはISO 21528-2:2004に従い、Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA)培地を用いた混釈培養(37±1℃, 24±2時間)に引き続くオキシダーゼ試験及びブドウ糖分解性試験による確定試験を行った。簡易培地法においては1社より入手した1製品を用い、製品添付の取扱説明書に従って検査を実施した。

2-2-2. 生菌数検査概要

培養法においてはISO 4883-1:2013に従い、標準寒天培地を用いた混釈培養(30±1℃, 72±2時間)を行った。簡易培地法においては3社より入手した3製品を用い、それぞれの製品に添付の取扱説明書に従って検査を実施した。

2-2-3. 大腸菌群数検査概要

培養法においてはISO 4832:2006に従い、Violet Red Bile Lactose (VRBL)寒天培地を用いた混釈培養(30±1℃, 24±2時間)に引き続くBrilliant Green Bile (BGB)培地を用いた確認培養(30±1℃, 24±2時間)を行った。簡易培地法においては3社より入手した3製品を用い、それぞれの製品に添付の取扱説明書に従って検査を実施した。

2-2-4. 大腸菌数検査概要

培養法においては ISO 16649-2:2001 に従い、Tryptone Bile X-Glucuronic (TBX) 培地を用いた混釈培養 (37±1°C, 4 時間の培養の後に 44±1°C, 24±2 時間) を行った。簡易培地法においては 3 社より入手した 3 製品を用い、それぞれの製品に添付の取扱説明書に従って検査を実施した。

3. 簡易検査法に与える試験条件の影響の検討

3-1. 試料融解条件が試験結果に及ぼす影響についての解析

アイスクリーム試料 5 g を 4°C、15°C、23°C、32°C 及び 37°C で完全に融解するまで静置した後に、3M™ ペトリフィルム™ 生菌数測定用プレート (AC プレート) に接種し 32°C, 48 時間培養を行った。

3-2. 培養条件が試験結果に及ぼす影響についての解析

同一条件下で調整した試料 (融解条件: 23°C、40 分間) を 3M™ ペトリフィルム™ 生菌数測定用プレート (AC プレート) に接種し、20, 25, 30, 32, 37°C の温度条件下で 24, 48, 72 時間の培養 (計 15 条件) を行った。それぞれの条件について、三回づつの試行を行い、得られた結果群に対して外れ値検定 (箱ひげ図解析及び、スミノルフ・グラブス検定) を行った。また、得られた結果群を母集団としてそれぞれの測定結果の Z 値を算出した。

4. 加熱殺菌による衛生指標菌数動態検査

4-1. 検体

北海道内の 1 農場にて個別の牛個体より採取した生乳 (以下、個体乳) 15 検体を分与頂いた。加えて、北海道内の独立した 10 農場よりバルク乳を分与頂いた。全ての乳検体は採取後に密閉容器にて冷蔵温

度帯で輸送し、試験実施まで 4°C 以下で保管した。

4-2. 生乳性状検査

試料を冷蔵にて十勝農業協同組合連合会畜産部畜産検査センターに送付し、CombiFoss FT+600 システム (FOSS 社) により乳脂肪分、無脂乳固形分、タンパク質分、乳糖分、体細胞数、尿素体窒素濃度、遊離脂肪酸濃度、乳中ケトン体濃度の測定を行った。加えて、試料を冷凍後、株式会社生物技研に送付し、16S rRNA V3/V4 領域に基づく細菌叢解析を行った。

4-3. 加熱殺菌前後の衛生指標菌検査

試料を乳温度 65°C まで加熱後に 10 分、20 分及び 30 分間保持した試料及び、未加熱の試料について下記の概要にて衛生指標菌数の検査を実施した。試料を生理食塩水を用いて適宜段階希釈した後、一般生菌数 (3M™ ペトリフィルム™ 生菌数測定用プレート (AC プレート) にて 32°C, 48 時間培養)、腸内細菌科菌群数 (3M™ ペトリフィルム™ 腸内細菌科菌群数測定用プレート (EB プレート) にて 37°C, 24 時間培養)、大腸菌数 (3M™ ペトリフィルム™ E. coli 及び大腸菌群数測定用プレート (EC プレート) にて 35°C, 48 時間培養)、大腸菌群数 (3M™ ペトリフィルム™ E. coli 及び大腸菌群数測定用プレート (EC プレート) にて 35°C, 24 時間培養) についてそれぞれの乳試料 1 mL あたりの CFU を算出した (検出下限 1 CFU/mL)。

C. 結果

1. 低温殺菌牛乳製造施設の工程管理及び衛生検査実態調査

1-1. 調査対象施設概要

本調査においては、従業員数 3～5 名の小規模事業者を調査対象とした（表 1）。調査対象とした 3 つの事業者間で製造規模に大きな差は無いものの、施設 A は FSSC 22000 及び北海道 HACCP 自主衛生管理認証制度の認証を受けていた。一方で、施設 B 及び C は上記のような衛生管理過程に関する定期的な第三者評価を受けていない施設であった。

各施設に共通する項目として、原乳受入元（自社牧場）、乳の殺菌条件（65℃, 30 分）が挙げられた。一方で、原乳の受入方法、包装形態、賞味期限、製品記載の保存方法、販売先の広域性に差が観られ、これらの項目に基づいた事業者毎に適した製造工程管理及び製品管理の必要性が抽出された。

1-2. 製造工程の比較

各施設の製造フローチャートを図 1 に示した。生乳の受入工程においては、施設 A ではミルクローリーから専用パイプを用いて閉鎖系で受入がなされていたのに対して、施設 B では専用バケツで受入れた生乳をホールディングタンクへ開放系で投入しており、また施設 C においても専用ポリタンクで受入れた生乳を受入槽へ開放系で投入していた。加えて、容器包装形態が異なるために、施設 A と施設 B、C の間で充填工程に差が観られた。これらの結果から同種の事業体であっても、施設毎に生物的危害要因混入の可能性が考えられる工程に差があることが明らかとなった。

1-3. 検査体制及び検査項目の比較

各施設における自主検査実施状況を表 2 に示した。施設 A は事業所内に製造部門とは独立した検査部門を持つ施設である一方

で、施設 B 及び C では独立した検査部門を持たず製造業務を行う職員が検査業務を兼務していた。また、施設 B 及び C においては特に、製造施設で実施可能な検査項目が限られており、乳等省令で成分規格として定められている項目を含めた多くの検査項目を外部委託検査に頼っている現状が明らかとなった。加えて、すべての施設で自主検査として何らかの簡易検査法を採用している実態が確認された。また、従業員への聞き取りにより、簡易検査法の使用方法について必ずしも十分な教育を受けて実施されているものとは限らないことが明らかとなり、乳製品検査への簡易検査法の導入や試験法提示にあたって、検査精度や結果の信頼性確保のために、適切な適用箇所や試験方法の明示を行う必要性が示された。

2. アイスクリーム製造施設の工程管理及び衛生検査実態調査

2-1. 調査対象施設概要

従業員数 2～5 名の小規模製造工場を調査対象とした（表 3）。調査対象とした 3 つの事業者のうち、施設 F は FSSC 22000 の認証を受けていた一方で、施設 D 及び E は上記のような衛生管理過程に関する定期的な第三者評価を受けていない施設であった。各施設とも食品衛生法の改正に伴う HACCP に沿った衛生管理の制度化において小規模事業者への分類が想定される事業所であるものの、施設 D 及び E においてはインターネット販売や業務用販売を通して全国各地で入手可能な販売ルートを構築しており、本邦の食品衛生の向上を考える上で、これら小規模製造施設の衛生管理の重要性が示された。

2-2. 製造工程の解析

小規模施設における製造フローチャートを図2に示した。調査を行った全ての施設において基本的には共通の製造フローチャートとなっており、これは一般社団法人日本アイスクリーム協会が作成する

「HACCPの考え方を取り入れた衛生管理のための手引書（小規模なアイスクリーム類製造事業者向け）」に示される「バッチ式加熱殺菌冷却・カップアイスの製造工程例」

(<https://www.mhlw.go.jp/content/11135000/000554002.pdf>)によく一致するものであった。小規模アイスクリーム製造事業者においては同一製造ラインにて複数のフレーバーを製造する事業形態が一般的であったが、主原料となる乳製品等については加工済み製品を受け入れている一方で、フレーバーを決定する副原料については加工品に加えて工場内で加工するものも多く見受けられた。また、副原料については多くの製品で加熱殺菌工程の後に添加されることから、フレーバーごとに細菌学的汚染度に差が生じる可能性が抽出された。

2-3. 検査体制の比較

施設Fは事業所内に製造部門とは独立した検査部門を持つ施設である一方で、施設D及びEでは独立した検査部門を持たず製品検査については全てを外部委託検査に頼っている現状が明らかとなった。

3. 低温殺菌乳に対する簡易検査法の有効性の検討

小規模施設における調査から、小規模施設においては特に、簡易検査法の利用無しでの衛生管理は現実的ではなく、国際的な動向を踏まえた乳製品の衛生管理の導入においても簡易検査法利用の有効性の検討が

必要である事が示唆された。そこで、簡易検査法の有用性の検証及び実効性のある衛生指標菌の選択に資する科学的知見の収集を目的として、小規模施設で製造された低温殺菌牛乳及び原材料乳を入手し、EUで乳の成分規格として利用されている腸内細菌科菌群数について培養法と簡易検査法を用いた検査を実施した。また一方で、国内で成分規格が設定されている生菌数と大腸菌群、加えて大腸菌についての検査を実施し、これらの結果の比較解析を行った。培養法についてはISO規格内で示されている方法を採用し、簡易検査法については可能な限り複数の製品を利用した。

EUにおいては低温殺菌牛乳の成分規格として腸内細菌科菌群数で1 cfu/mL未満であることが求められている。国内小規模製造施設で製造された低温殺菌牛乳に対する腸内細菌科菌群の検査においては、ISO法及び簡易検査法のいずれにおいても検出下限以下（1 cfu/mL未満）となった(図3A, B)。生乳についてはISO法-簡易法間で比較的良好な相関がみられ生乳の衛生状態モニタリングにおける簡易検査法の有用性が示された(図3C, D)。

生菌数の検査では、低温殺菌牛乳に対する検査において製品によってはISO法に比較して簡易検査法で低い値となる傾向が観られ、低温殺菌牛乳の生菌数検査に簡易検査法を導入する際には慎重な検討が必要であることが明らかとなった(図4A)。ISO法と簡易検査法を比較すると、両方で培養条件（ISO法では30°Cで72時間、簡易検査法では32°Cもしくは35°Cで48時間）が異なっており、この事が原因で両者の結果に差が出ている可能性が考えられた。我々

は培養時間を変更した追加実験において、培養条件の調整により簡易検査法の種類によっては培養法と同等の結果を得る事も可能である事を明らかにしている(図7)。以上の結果は、低温殺菌牛乳検査に対する簡易検査法の使用法の提示について慎重な検討の必要性を示すものと考え。一方で、生乳の検査においてはISO法-簡易法間で同等の結果が得られた(図4C, D)。

大腸菌群数の検査では、低温殺菌牛乳に対する検査においてISO法及び簡易検査法のいずれにおいても検出下限以下となり(図5A, B)、また生乳の検査においてもISO法-簡易法間で同等の結果が得られ(図5C, D)、簡易検査法の有用性が確認された。

大腸菌数の検査では、低温殺菌牛乳に対する検査においてISO法及び簡易検査法のいずれにおいても検出下限以下であった(図6A, B)。一方で、生乳に対する検査ではISO法-簡易検査法間で施設Aでは比較的良好な相関が得られたものの、施設Cでは簡易法2でのみ陽性の結果が得られており(図6C, D)、各施設において簡易検査法を選択する際には施設毎に乳の特性を考慮した慎重な検討が必要であることが示唆された。

4. アイスクリームに対する簡易検査法の有効性の検討

小規模アイスクリーム製造施設の製造工程解析から同一施設で製造された製品であってもフレーバーごとに微生物学的汚染度に差が有る可能性が示唆された。そこで、施設D及びEより複数のフレーバーを入手(施設Fにおいては1種類のフレーバーのみを製造)し、生菌数、大腸菌群数、大腸

菌数及び腸内細菌科菌群数の比較検討を行った。全ての項目について、ISO法に基づく混積培養法に加え、簡易検査法による検査を実施し、アイスクリーム製品検査における簡易検査法の有用性の検討も同時に実施した。

大腸菌群、大腸菌及び腸内細菌科菌群においては全てのフレーバーでISO法及び簡易検査法のいずれにおいても検出下限(10^1 CFU/g)以下であった(Data not shown)。一方で、生菌数については施設Dでは最大で $10^{3.5}$ CFU/g、施設Eでは最大で $10^{2.5}$ CFU/g、施設Fでは0 cfu/gが検出され、各施設で製造された全ての製品が乳等省令に定める成分規格に比較して十分に低い値であることが確認された(図8)。検出される生菌数についてフレーバー間での比較を行ったところ、施設Dでは最大で 10^2 CFU/g程度、施設Eでは最大で 10^1 CFU/g程度の差が確認された。

ISO法と簡易検査法の結果の比較においては、ISO法に比較して簡易検査法で若干低い値を示す傾向にあったものの、全てのフレーバーにおいてその差は \log_{10} CUF/g < 1となり副原料による有意な阻害効果は観察されなかった。

5. 簡易検査法に与える試験条件の影響の検討

先に示した様に、小規模施設においては十分な検査設備が整っておらず、自主検査に簡易検査法を導入したとしても、その検査精度の担保が難しい現状が抽出された。すなわち、小規模施設では検査を実施する上で十分な施設が整っておらず、簡易検査法を用いた自主検査の実施において検査結果に影響を与える要因(特性要因)の

制御が十分に実施出来ない現状が明らかとなった。簡易検査法のプロトコールを解析した結果、図9に示す複数の特性要因が検出された。これらの中で「試料の縮分」及び「コロニーカウント」については試験実施者の教育訓練での制御が可能であり、また「添加量」については最終的な試験結果に及ぼす影響を使用する機器の精度から推定可能である。一方で、「試料の前処理条件（温度、時間）」及び「培養条件（温度、時間）」については、温度や時間の変動と試験結果（コロニー数）の相関（影響の重大さ）の評価が難しく、実測データを基にした評価が必要となる。また、小規模施設においては設備的な問題から精確な温度制御の実施が難しい実態も明らかとなっている。そこで、本研究ではアイスクリーム製品を試料として用い、簡易検査法を利用した際の「試料の前処理（融解）条件（温度、時間）」、及び「培養条件（温度及び時間）」の変動が試験結果に及ぼす影響について考察を行った。

「試料の融解条件（温度、時間）」が試験結果に及ぼす影響について解析した結果、融解条件間で試験結果に有意な差は認められなかった（表4）。一方で「培養条件（温度及び時間）」が試験結果に及ぼす影響について解析した結果、20℃、24時間の培養で得られた結果は他の条件下で培養した際の結果に比較して外れ値とみなされた。また、得られた結果群を母集団としてそれぞれの測定結果のZ値を算出した結果、20℃、24時間の培養で得られた結果のみがZ値 $|Z| > 3$ となった（表5）。

6. 加熱殺菌による衛生指標菌数動態の解析

先に示した様に、小規模施設においては特に、製品の差別化（ブランド化）のために原材料乳の入手元を直営農場に限定する場合が多く確認されており、製造事業者間で原材料乳の性状に多様性がみられる可能性が示唆された。また、小規模製造施設で製造される牛乳の殺菌方式について、高温短時間殺菌（HTST）あるいは超高温瞬間殺菌（UHT）が主流である大規模製造施設とは異なり、63～65℃で30分間処理する低温保持殺菌（LTLT）方式が主流であることも明らかとなった。そこで、複数の農場から様々な生乳を入手し低温加熱殺菌による各種衛生指標菌数動態の解析を行うことで、原材料乳に多様性を持つ小規模製造施設の製品に対する衛生指標菌種の妥当性についての検討を行った。

6-1. 乳の性状検査

多様な性状の生乳検体を確保する目的で、個別の牛個体より採取した生乳（個体乳）15検体（乳検体1 - 15）及び、独立した10農場よりバルク乳10検体（乳検体16 - 25）を入手し、試験に供した。乳の性状検査項目として、主要な乳成分である乳脂肪分、無脂乳固形分、タンパク質分、乳糖分を解析し（図10, A）、加えて乳房炎の指標の一つである乳中の体細胞数（図10, B）及び、乳牛の栄養状態の指標として用いられている尿素体窒素濃度（図10, C）、遊離脂肪酸濃度（図10, D）、乳中ケトン体濃度（図10, E）を解析した。乳脂肪分は最大値8.22%、最小値2.56%の間で、無脂乳固形分は最大値10.11%、最小値8.25%の間で、タンパク質分は最大値5.20%、最小値2.73%の間で、乳糖分は最大値4.63%、最小値3.91%の間で

サンプルによって様々な値をとっており、また、これらの指標の中では乳脂肪分の変動が最も大きかった（図 10, A）。乳中の体細胞数については最大値 3734×10^4 /mL、最小値 38×10^4 /mL、尿素体窒素濃度については最大値 16.1 mg/100 mL、最小値 7.2 mg/100 mL、遊離脂肪酸濃度については最大値 2.18 mmol/100gFAT、最小値 -1.84 mmol/100gFAT、乳中ケトン体濃度については最大値 0.20 mmol/L、最小値-

0.06 mmol/L の間で変動していた。更に、乳試料中の細菌叢構成について解析を行った。個体乳については 15 検体中 6 検体

（乳検体 4, 6, 8, 11, 12 及び 14）を、バルク乳については 10 検体全てを 16s rRNA 菌叢解析に供したところ、検体ごとに異なった細菌叢構成となっており試験に供した生乳試料が多様な検体であることが確認された（図 11）。Family 階層において腸内細菌科に属する菌が検出された検体は乳検体 6, 8, 16, 17, 19, 21 及び 24 であった。

6-2. 加熱殺菌による衛生指標菌数動態の解析

小規模製造施設において主流の加熱殺菌温度である 65°C 下で衛生指標菌数の動態について検証を行った。各試料を 65°C の条件下で 10 分間、20 分間及び 30 分間処理した後に、4 種類の衛生指標菌数を検証したところ、全ての乳検体の一般生菌数で 10 分以内に $2 \log_{10}$ CFU/mL 以上の低下を観察した（図 12）。糞便汚染の指標として国内で用いられている大腸菌群数と EU 諸国で用いられている腸内細菌科菌群数を比較したところ、多くの検体で加熱前の試料及び各加熱時間後の試料の両者において腸内細菌科菌群数の方が高い傾向が認められた。

加熱時間に対する減少率については、多くの試料において大腸菌群数と腸内細菌科菌群数の間で良好な相関が確認された。しかしながら、乳検体 2 では腸内細菌科菌群が検出されなかった一方で低濃度ながらも熱耐性の大腸菌群が検出され、また、乳検体 24 については逆に大腸菌群が検出されなかった一方で高濃度の熱耐性腸内細菌科菌群が検出された。

D. 考察

1. 小規模低温殺菌牛乳製造施設における製造工程及び検査体制の調査

小規模低温殺菌牛乳製造事業者においては施設内で実施可能な衛生検査については、大規模施設に比較して限られた項目となっており、また、公定法が指定する培養法による衛生検査が現実的には実施不可能な施設が多い実態が明らかとなり、これらの小規模施設の状況を勘案した衛生試験法提示の必要性が示された。加えて、これらの小規模施設においては、衛生検査に精通していない作業員により検査が実施されている実態も明らかとなり、簡易法を含めた標準試験法の導入において、試験方法の整備に加え、その適切な運用方法の提示の重要性が明らかとなった。

2. 小規模アイスクリーム製造施設における製造工程及び検査体制の調査

小規模アイスクリーム製造事業者においても、小規模低温殺菌牛乳製造事業者と同様に、施設内で実施可能な衛生検査について非常に限られたものとなっており、これらの小規模施設の状況を勘案した衛生試験法提示の必要性が示された。特に、小規模アイスクリーム製造事業者においては、同

一工場内で複数のフレーバーを生産する事業形態が一般的であり、製造品目数が少ない低温殺菌牛乳製造事業者と比較して、簡易な試験法導入の必要性がより強く示された。フレーバーを決定する副原料は加熱殺菌工程の後で加えられることが一般的であり、一般社団法人日本アイスクリーム協会が作成する「HACCPの考え方を取り入れた衛生管理のための手引書（小規模なアイスクリーム類製造事業者向け）」内においても、副原料を加熱殺菌後に添加する場合は殺菌済みの原料を使用することが求められている。副原料については加工済み製品を購入し使用する場合に加えて、商品価値付加の理由から各事業者において独自に加工したものも使用されており、その加工方法もフレーバーごとに様々である。本研究の解析結果からフレーバーごとに最終製品の細菌学的汚染度が異なることが明らかとなった。これらの結果及び、小規模事業者において同一製造日に複数のフレーバーを生産し、かつ各フレーバーを小ロットで生産している実情を考えると、簡易検査法を用いた迅速な日常検査による各製品の細菌学的汚染度のトレンド解析は非常に有用かつ効果的な方法であると考えられる。

3. 簡易検査法の有用性解析

低温殺菌牛乳製造施設における簡易検査法の有用性に関する検討においては、一部の検査項目においてISO法-簡易検査法間ならびに簡易検査法間で結果に差がみられ、施設ごとに乳の性質を勘案した最適な検査法選択の必要性が示唆された。小規模製造施設において衛生検査に精通していない作業者が検査を実施している現状を踏まえると、小規模施設において簡易検査法を

導入するには専門家による支援を含めた慎重な検討の必要性も示唆された。

小規模アイスクリーム製造施設で製造された製品に対する解析においては、同一事業者にて製造された複数のフレーバーに対してISO法と簡易検査法の結果を比較したところ、ISO法に比較して簡易検査法で若干低い値を示す傾向にあったものの、全てのフレーバーにおいてその差は \log_{10} CUF/g < 1 となり、成分規格に対して十分に低い汚染度の国内流通品に対して簡易検査法が十分に使用可能な方法であることが確認された。

一方で、たとえ簡易検査法を用いた試験の実施を計画したとしても、小規模施設においては現状では十分な試験設備が備えられているとはいえ、各施設において簡易検査法に添付の取扱説明書に従った試験の実施が現実的ではない実態も明らかとなった。本研究では精確な温度制御をしていない条件下で簡易検査法を利用する場合を想定し、温度条件が試験結果に与える影響についてアイスクリーム製品を検体として解析を行った。その結果、25 - 37°C、24 - 72 時間の範囲においては個々の条件下で得られる試験結果に有意な差は観られなかった。以上の結果から、簡易検査法は恒温槽などの設備の精確さが担保できない事業者においても十分に使用可能な方法であることが示唆された。

4. 加熱殺菌による衛生指標菌数動態検査

小規模製造施設では施設ごとに異なった独自の農場より原材料乳を入手していることを明らかにし、この結果から原材料乳の状態に多様性があることが示唆された。そこで、複数の農場で搾乳された性状が異

なる生乳を試料として、小規模製造施設で主流となっている低温保持殺菌(LTLT)方式下での各種衛生指標菌数の動態について検証を実施し、各衛生指標菌の衛生管理評価指標としての妥当性について検討を行った。先述の様に、現在、わが国の乳及び乳製品については、乳等省令に基づき生菌数（一般生菌数）に加え、病原微生物による汚染度を推察する指標として大腸菌群が採用されている。一方でEU諸国においては腸内細菌科菌群を指標とした評価が行われており、食品衛生の国際的な整合性確保の観点からこれらの相違あるいは同等性についての検証が望まれている。小規模製造施設における製造形態をモデルとして実施した本解析の結果から、大部分の乳試料において低温保持殺菌条件下における大腸菌群数と腸内細菌科菌群数の動態に良好な相関が確認された。併せて低温殺菌前後において大腸菌群に比較して腸内細菌科菌群の検出率が高い傾向を示す事も確認された。これらの傾向は原材料乳の性状及び細菌叢構成の多様性に左右されておらず、この事から、原材料乳の状態に多様性が示唆される小規模製造施設の製品においても各衛生指標菌数の動態が本モデル実験の結果と同様の傾向であるものと推察された。これらの結果は、乳及び乳製品の評価指標として現在乳等省令で採用されている大腸菌群の代替として腸内細菌科菌群を利用する事の妥当性を示すものであると考える。

一方で、一部の乳検体においては耐熱性の腸内細菌科菌群の存在が示された（図2、乳検体24）。同検体においては一般生菌数についても加熱処理後に多くの生残が確認されている。現在、国内の多くの生乳

検査機関において耐熱性細菌数（バルク乳を63℃、30分間処理した後に検出される生菌数）をモニタリングする取組みが実施されており、農場における農場衛生及び搾乳衛生の向上に役立っている。今後、これらの生乳及び農場衛生に関する取組みと乳製品検査の連携によって、より高度な乳製品の衛生管理体制を構築していくことが望まれる。

E. 結論

小規模低温殺菌牛乳製造施設及び小規模アイスクリーム製造施設の調査から、小規模施設内で実施可能な衛生検査が非常に限られたものである実態が明らかとなった。これらの施設において衛生検査の多くを外部検査機関への受託検査に頼っている現状からも、今後の新たな衛生管理手法の導入において、簡易検査法が担う役割の重要性が強く示された。特に、小規模アイスクリーム製造施設では細菌学的汚染度の異なる複数のフレーバーを小ロットで製造している実態が明らかとなり、各施設において簡易検査法を利用した迅速な日常検査導入の重要性が示唆された。加えて、小規模事業者では十分な教育訓練を受けていない従業員が検査を実施している等の簡易検査の運用方法についての問題点も抽出され、簡易検査法を用いた標準試験法の整備においては、各施設での適切な適用箇所や運用方法に関する支援を行う必要性も示された。簡易検査法を用いた試験の結果に試験設備条件が与える影響について検討した結果、恒温槽等を用いた正確な温度管理が難しい試験条件下においても試験条件の大まかなコントロールにより、簡易検査法を用

いて適切な結果が得られることが明らかとなった。本結果は小規模製造施設の日常検査における簡易検査法の有用性を示すものである。

小規模製造施設の製造形態をモデルとして実施した多様な性状の生乳に対する加熱処理後の衛生指標菌検査において、大腸菌群数と腸内細菌科菌群数の動態に良好な相関が見られた。これらの結果は、小規模製造施設で製造された製品に対する衛生検査指標として腸内細菌科菌群を用いることの妥当性を示す結果であると考えられる。

本研究により得られた成果は乳及び乳製品の衛生管理における国際整合性確保の推進に資するものであり、今後、簡易検査法の導入を含めた国内の各種事業形態に適応した実行性のある試験法整備に貢献するものであると期待する。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

なし

学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

表 1 低温殺菌牛乳製造施設の概要

施設名	施設 A	施設 B	施設 C
製造品目	LTLT 牛乳、UHT 牛乳、アイスクリーム	LTLT 牛乳、ソフトクリーム、ミルクジャム	LTLT 牛乳、アイスクリーム
従業員数	5 名	4 名	3 名
受入乳量	製造日あたり 400 L	製造日あたり 300 L	製造日あたり 300 L
受入元	自社牧場	自社牧場	自社牧場
集乳方法	隣接の搾乳施設より専用ミルクローリーで搬入	隣接の搾乳施設よりインラインで搬入	隣接の搾乳施設よりポリタンクで搬入後、冷蔵保管
低温殺菌牛乳の殺菌条件	65°C, 30 分間	65°C, 30 分間 (ノンホモ牛乳)	65°C, 30 分間 (ノンホモ牛乳)
包装形態	ゲブルトトップ紙容器 (500 mL)	瓶詰め (720 mL) 業務用ビニールバック詰め (10 L, 5 L)	瓶詰め (720 mL, 200 mL) 業務用ビニールバック詰め (10 L)
生産量	週 1 回製造 製造日あたりの製造量 ・ゲブルトトップ紙容器 (500 mL) x 600 本	週 2 回製造 製造日あたりの製造量 ・瓶詰め (720 mL) x 12 本 x 8~20 ケース ・業務用ビニールバック詰め (10 L) x 15~25 バック	週 2 回製造 製造日あたりの製造量 ・瓶詰め (720 mL) x 12 本 x 10~15 ケース ・瓶詰め (200 mL) x 20 本 x 5~10 ケース ・業務用ビニールバック詰め (10 L) x 7~10 バック
容器の殺菌方法	ゲブルトトップ紙容器：殺菌済み製品を購入	瓶詰め用瓶：アルカリ洗浄後、蒸気加熱殺菌 (90°C, 5 分) 瓶詰め用紙キャップ：殺菌済み製品を購入 ビニールバック：殺菌済み製品を購入	瓶詰め用瓶：アルカリ洗浄後、蒸気加熱殺菌 (85°C, 30 分) 瓶詰め用紙キャップ：殺菌済み製品を購入 ビニールバック：殺菌済み製品を購入
賞味期限	製造日翌日より 5 日間	製造日より 5 日間	製造日より 8 日間
保存方法	要冷蔵 (10°C以下)	要冷蔵 (6°C以下)	要冷蔵 (10°C以下)
販売先	直営販売所 (北海道 1 箇所) スーパーマーケット販売 (北海道)	直営販売所 (北海道内 2 箇所) スーパーマーケット販売 (東京都) 通信販売 業務用販売 (北海道、東京都)	スーパーマーケット販売 (北海道) 通信販売 業務用販売 (北海道、大阪)
認定	FSSC 22000、北海道 HCCP	無し	無し

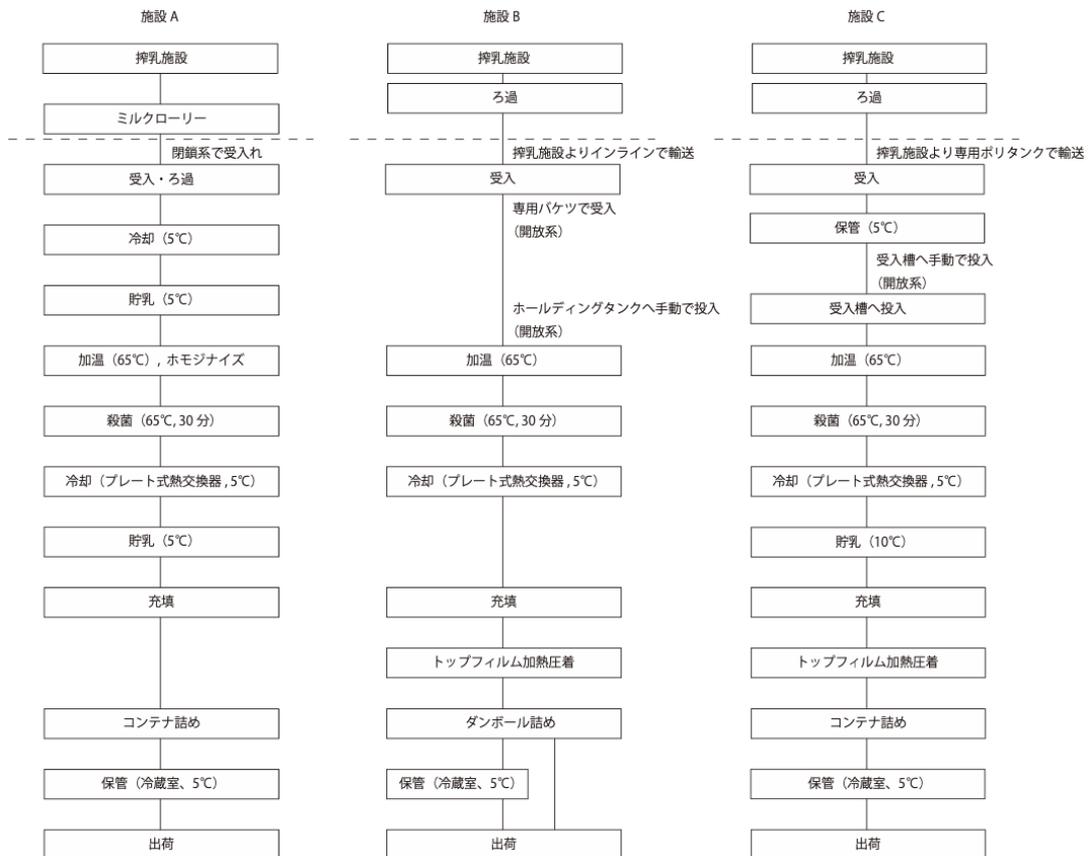


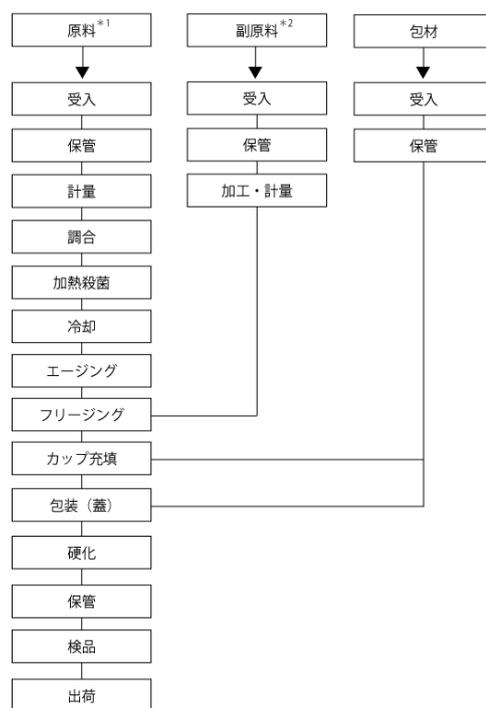
図1 小規模低温殺菌牛乳製造施設における製造フローチャートの比較

表 2 低温殺菌牛乳製造施設における自主検査項目の比較

工程	検査対象	検査項目	施設 A			施設 B			施設 C		
			頻度	作業内容または手順	チェック項目	頻度	作業内容または手順	チェック項目	頻度	作業内容または手順	チェック項目
生乳受入検査	生乳	視覚試験	製造ごと	バルククーラーの蓋を開け、視覚的に生乳状態を判断する。	色・凍結・異物確認	製造ごと	受入時に、視覚的に生乳状態を判断	色・凍結・異物確認	製造ごと	受乳槽投入時に、視覚的に生乳状態を判断	色・凍結・異物確認
		嗅覚試験	製造ごと	バルククーラーの蓋を開け、臭いを嗅ぐ。	洗剤・塩素・発酵・牛舎・飼料の臭いがないか確認	製造ごと	受入時に、臭いを嗅ぐ	洗剤・塩素・発酵・牛舎・飼料の臭いがないか確認	製造ごと	受乳槽投入時に、臭いを嗅ぐ	洗剤・塩素・発酵・牛舎・飼料の臭いがないか確認
		味覚試験	製造ごと	口に含み鼻腔を通して息を吐き出す。	塩味、苦味、酸味、嗅覚での異臭がないか確認	-	-	-	-	-	-
		アルコールテスト	製造ごと	ディッパーにて同量の生乳・アルコールを混合する。	凝固がないか確認	-	-	-	-	-	-
		比重	製造ごと	乳比重計にて、比重測定→乳温測定を行い、比重補正値にて判定すること	比重補正値が1.033前後であることを確認	-	-	-	製造ごと	乳比重計にて、比重測定→乳温測定を行い、比重補正値にて判定	1.028-1.034の範囲であることを確認
		生菌数	製造ごと	生乳をコンラージ棒にて血液寒天培地に無菌的に塗抹し 38℃24時間培養する。	菌数に異常がないことを確認	-	-	-	-	-	-
		ブドウ球菌数	製造ごと	生乳をコンラージ棒にてマンニト食塩寒天培地に無菌的に塗抹し 38℃24時間培養する。	菌数に異常がないことを確認	-	-	-	-	-	-
		腸内細菌数	製造ごと	生乳をコンラージ棒にて D11 寒天培地に無菌的に塗抹し 38℃24時間培養する。	菌数に異常がないことを確認	-	-	-	-	-	-
		残留抗生物質	製造ごと	検査キットに生乳を染み込ませ、専用インキュベーターで加温（8分）する。	陰性であることを確認	-	-	-	-	-	-
		製品検査	牛乳	乳温	製造ごと	充填開始時、バックへ温度計を入れ測定	10℃以下であることを確認	製造ごと	プレート式熱交換器に付属の温度計をチェックする	5℃以下であることを確認	-
視覚試験	製造ごと			視覚的に牛乳の状態を判断する	色に異常、異物がないか確認	製造ごと	視覚的に牛乳の状態を判断する	色に異常、異物がないか確認	製造ごと	視覚的に牛乳の状態を判断する	色に異常、異物がないか確認
味覚試験	製造ごと			口に含み鼻腔を通して息を吐き出す	塩味、苦味、酸味、嗅覚での異臭がないか確認	製造ごと	口に含み鼻腔を通して息を吐き出した後に、飲乳する	塩味、苦味、酸味、嗅覚での異臭がないか確認	-	-	-
異物確認	製造ごと			セジメントテストにより確認	異物がないか確認	-	-	-	-	-	-
比重	製造ごと			乳比重計にて、比重測定→乳温測定を行い、比重補正値にて判定すること	比重補正値が1.033前後であることを確認	-	-	-	-	-	-
重量	製造ごと			製品の重量を計測する	528g以上（包装容器込み）であることを確認	-	-	-	-	-	-
一般生菌数	製造ごと			牛乳をコンラージ棒にて血液寒天培地に無菌的に塗抹し、38℃24時間培養。	100cfu/m ¹ 以下であることを確認	-	-	-	-	-	-
大腸菌群数	製造ごと			・牛乳を BGLB 発酵管へ注入し、38℃24時間培養。 ・牛乳を簡易培地でサンドし 38℃24時間培養。	陰性であることを確認	製造ごと	牛乳を簡易培地でサンドし、工場内の温所で 24時間培養	陰性であることを確認	製造ごと	簡易迅速測定キットにより判定	陰性であることを確認
残留抗生物質	製造ごと			培地上的ペーパーディスクに牛乳を染み込ませ、55℃6時間培養。	陰性であることを確認	-	-	-	-	-	-
包装状態	トップ圧着チェック			製造ごと	ダイチェック（色素液の漏洩チェック）により確認	漏れが無いことを確認	-	-	-	-	-
	ボトム圧着チェック		製造ごと	ダイチェック（色素液の漏洩チェック）により確認	漏れが無いことを確認	-	-	-	-	-	-
	キャップチェック		-	-	-	製品ごと	目視により確認	密封状態に異常が無いことを確認	製品ごと	目視により確認	密封状態に異常が無いことを確認
	トップフィルム圧着チェック		-	-	-	製品ごと	目視により確認	異常が無いことを確認	製品ごと	目視により確認	異常が無いことを確認
賞味期限印字確認	製造ごと		目視により確認	賞味期限印字状態を確認	製品ごと	目視により確認	賞味期限印字状態を確認	製品ごと	目視により確認	賞味期限印字状態を確認	
備考（外部委託検査について）		上記項目以外に体細胞数、総菌数、耐熱性菌数、乳脂肪分、無脂乳固形分、比重、酸度について外部委託により検査を実施。			上記項目以外に体細胞数、生菌、耐熱菌数、乳脂肪分、無脂乳固形分、比重、酸度、アルコールテスト、残留抗生物質、血液混入、タンパク質含有量、乳糖量、水点、窒素量、について外部委託により検査を実施。			上記項目以外に生菌、大腸菌群数、大腸菌、乳脂肪分、無脂乳固形分、比重、酸度、残留抗生物質について外部委託により検査を実施。			

表 3 アイスクリーム製造施設の概要

施設名	施設 D	施設 E	施設 F
製造品目	アイスクリーム、ラクトアイス	アイスクリーム	アイスクリーム
従業員数	5名	4名	2名
包装形態	紙容器	紙容器	紙容器
生産量	週 5 (繁忙期) - 2 回 (閑散期) 製造日あたりの製造量 ・ 2,000 個 (カップアイス換算)	週 5 回 (繁忙期) - 2 回 (閑散期) 製造日あたりの製造量 ・ 1,000 個 (カップアイス換算)	月 2 回 製造日あたりの製造量 ・ 400 個 (カップアイス換算)
販売先	直営販売所 (北海道内 3 箇所) 通信販売 業務用販売 (PB 含む) (北海道、東京都)	直営販売所 (北海道内 2 箇所) 非直営販売所 (百貨店等) (北海道、東京都、徳島県、島根県、兵庫県) 通信販売 業務用販売 (PB 含む) (北海道、東京都)	直営販売所 (北海道内 1 箇所)
認定	無し	無し	FSSC 22000



*1 原料：生クリーム、脱脂粉乳、バター、砂糖、ブドウ糖、安定剤、乳化剤、水
*2 副原料：フレーバー毎に異なる

図 2 小規模アイスクリーム製造施設における、カップアイスクリーム製造フローチャート

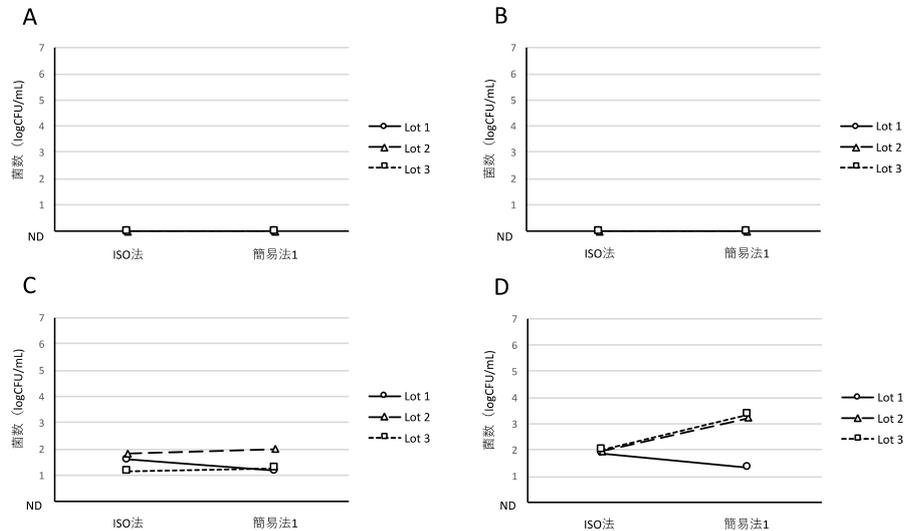


図3 乳試料に対する腸内細菌科菌群検査法における培養法と簡易検査法の比較

施設A及び施設Cから入手した生乳及び低温殺菌牛乳についてISO法及び簡易検査法を用いた腸内細菌科菌群検査の結果を示した。全ての試験は各施設から入手した異なる3ロットの試料について実施した。縦軸のNDは検出下限以下(1 cfu/mL未満)を示す。それぞれのグラフは施設Aの低温殺菌牛乳(A)、施設Cの低温殺菌牛乳(B)、施設Aの生乳(C)、施設Cの生乳(D)に対する試験結果を示す。

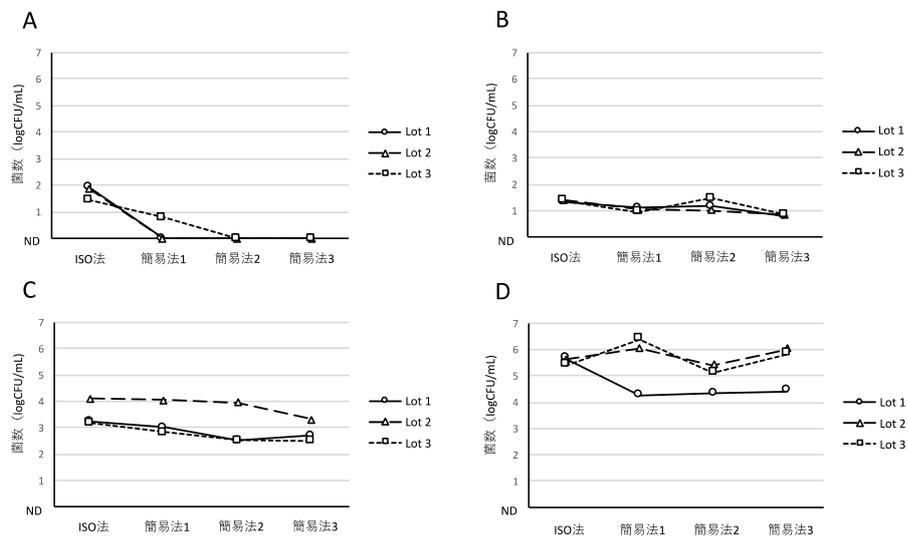


図4 乳試料に対する生菌数検査における培養法と簡易検査法の比較

施設A及び施設Cから入手した生乳及び低温殺菌牛乳についてISO法及び簡易検査法を用いた生菌数検査の結果を示した。全ての試験は各施設から入手した異なる3ロットの試料について実施した。縦軸のNDは検出下限以下(1 cfu/mL未満)を示す。それぞれのグラフは施設Aの低温殺菌牛乳(A)、施設Cの低温殺菌牛乳(B)、施設Aの生乳(C)、施設Cの生乳(D)に対する試験結果を示す。

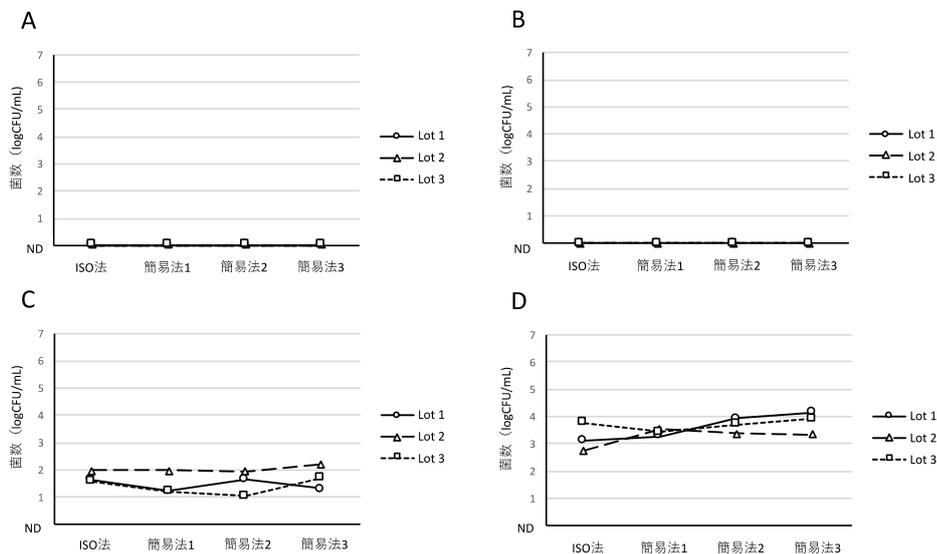


図5 乳試料に対する大腸菌群検査法における培養法と簡易検査法の比較

施設A及び施設Cから入手した生乳及び低温殺菌牛乳についてISO法及び簡易検査法を用いた大腸菌群検査の結果を示した。全ての試験は各施設から入手した異なる3ロットの試料について実施した。縦軸のNDは検出下限以下(1 cfu/mL未滿)を示す。それぞれのグラフは施設Aの低温殺菌牛乳(A)、施設Cの低温殺菌牛乳(B)、施設Aの生乳(C)、施設Cの生乳(D)に対する試験結果を示す。

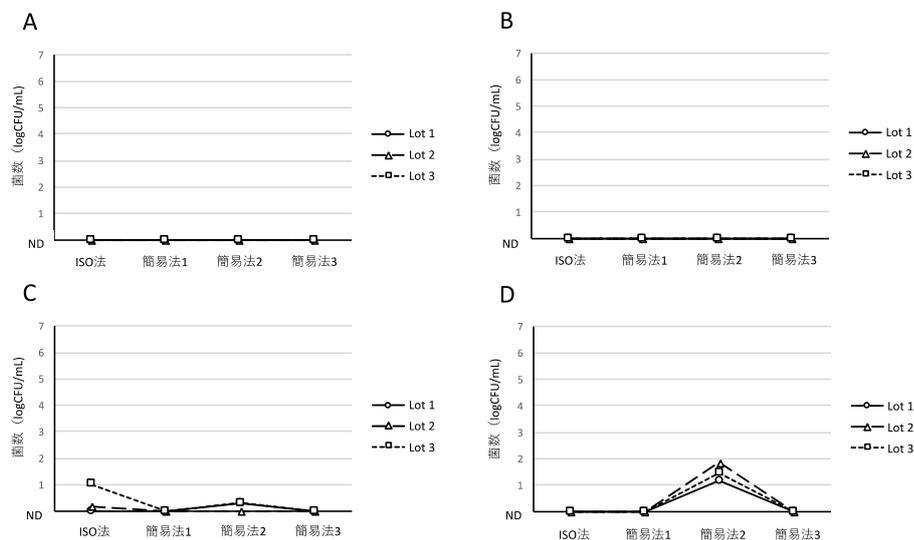


図6 乳試料に対する大腸菌検査における培養法と簡易検査法の比較

施設A及び施設Cから入手した生乳及び低温殺菌牛乳についてISO法及び簡易検査法を用いた大腸菌数検査の結果を示した。全ての試験は各施設から入手した異なる3ロットの試料について実施した。縦軸のNDは検出下限以下(1 cfu/mL未滿)を示す。それぞれのグラフは施設Aの低温殺菌牛乳(A)、施設Cの低温殺菌牛乳(B)、施設Aの生乳(C)、施設Cの生乳(D)に対する試験結果を示す。

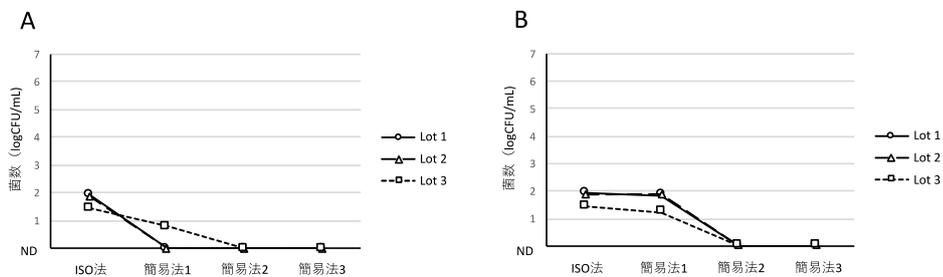


図7 培養条件が検査結果へ及ぼす影響の検討

施設 A 及から入手した低温殺菌牛乳について ISO 法及び簡易検査法を用いた一般生菌数検査の結果を示した。全ての試験は異なる 3 ロットの試料について実施した。縦軸の ND は検出下限以下 (1 cfu/mL 未満) を示す。ISO 法についてはグラフ A, B の両方で 30°C, 72 時間培養後の結果を示す。簡易検査法についてはグラフ A では 32°C もしくは 35°C で 48 時間培養後の結果を示しており、グラフ B では 32°C もしくは 35°C で 72 時間培養後の結果を示している。簡易法 1 においては 48 時間培養後には ISO 法に比較して低い値を示しているが、72 時間培養後には ISO 法と同等の結果が得られている。

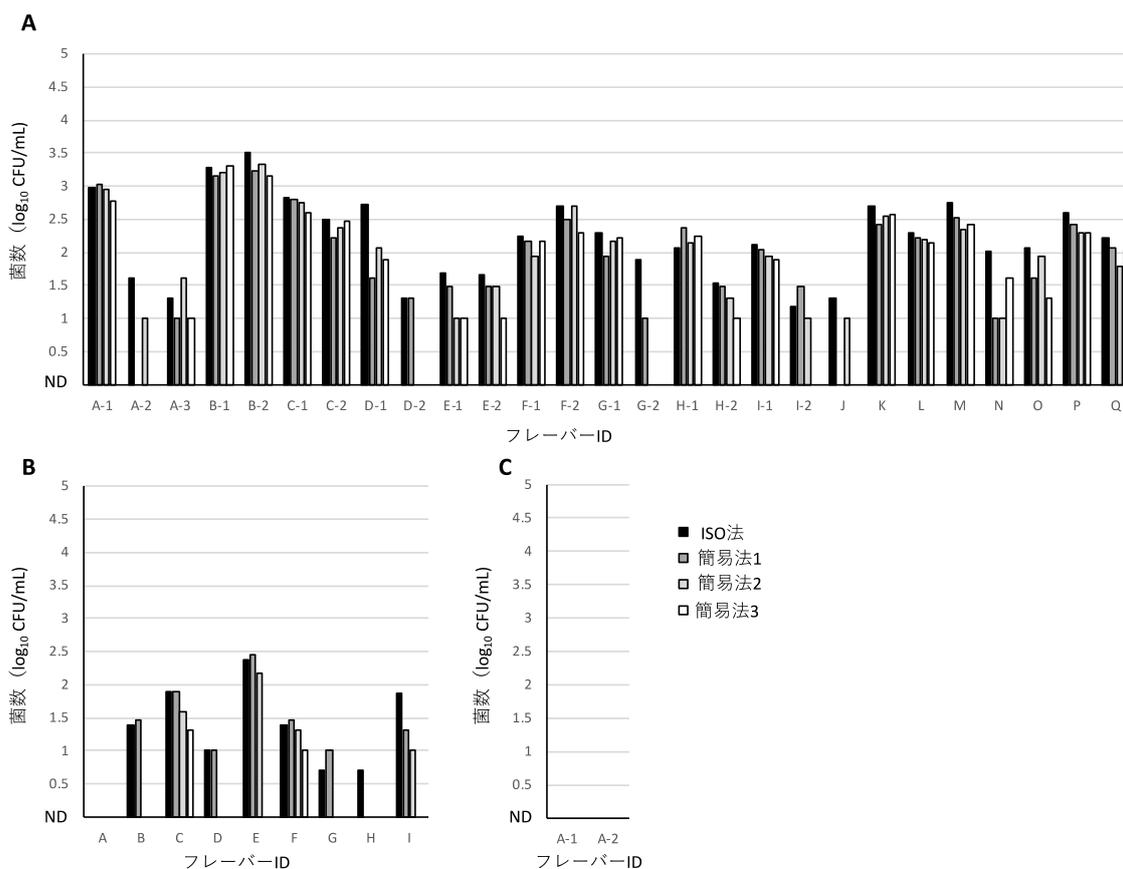


図8 小規模製造施設で製造されたアイスクリーム製品の生菌数

各施設から購入した製品についてISO法及び簡易検査法(3種類)を用いた生菌数検査の結果を示した。縦軸のNDは検出下限以下(10 cfu/mL未満)を示す。それぞれのグラフは(A)施設Dで製造されたA-Qまでの異なる17種類のフレーバー(フレーバーAについては枝番で示す製造日の異なる3つの製造ロットを、フレーバーB-Iについては枝番で示す製造日の異なる2つの製造ロットを、フレーバーJ-Qについては1製造ロットを試験に供した)、(B)施設Eで製造されたA-Iまでの異なる9種類のフレーバー、(C)施設Fで製造された1種類のフレーバー(製造日の異なる2つの製造ロットを試験に供した)に対する試験結果を示す。

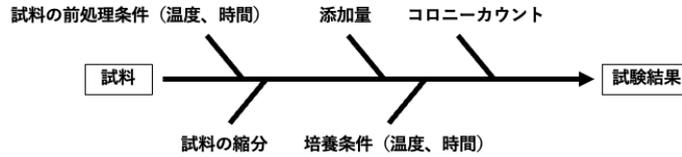


図9 簡易検査法の試験結果に影響を与える要因 (特性要因図)

表4 異なる条件で融解した試料に対して簡易検査法を用いて得られる結果の比較

試料の融解条件		結果		
温度	時間	1回目	2回目	3回目
4°C	120 min	440 (-1.82)	620 (0.53)	550 (-0.38)
15°C	50 min	620 (0.53)	580 (0.01)	650(0.92)
23°C	35 min	460 (-1.56)	640 (0.79)	530 (-0.65)
32°C	30 min	500 (-1.04)	690 (1.45)	640 (0.79)
37°C	25 min	610 (0.40)	510 (-0.91)	650 (0.92)

それぞれの数値はアイスクリーム試料 1 g 当りの菌数 (cfu/g) を示す。また括弧内の数値は得られた結果群を観察集団とした際の、個々の試験結果の Z 値を示す。

表5 異なる条件で培養した場合に得られる簡易検査法の結果の比較

培養条件		結果		
温度	時間	1回目	2回目	3回目
20°C	24h	0 (-3.38)	0 (-3.38)	0 (-3.38)
	48h	910 (0.75)	800 (0.25)	890 (0.65)
	72h	910 (0.75)	800 (0.25)	920 (0.79)
25°C	24h	830 (0.38)	680 (-0.30)	820 (0.34)
	48h	900 (0.70)	730 (-0.07)	840 (0.43)
	72h	900 (0.70)	730 (-0.07)	840 (0.43)
30°C	24h	650 (-0.43)	720 (-0.12)	960 (0.97)
	48h	650 (-0.43)	720 (-0.12)	960 (0.97)
	72h	650 (-0.43)	720 (-0.12)	960 (0.97)
32°C	24h	750 (0.02)	760 (0.06)	800 (0.25)
	48h	750 (0.02)	760 (0.06)	800 (0.25)
	72h	750 (0.02)	760 (0.06)	800 (0.25)
37°C	24h	700 (-0.21)	760 (0.06)	920 (0.79)
	48h	700 (-0.21)	760 (0.06)	920 (0.79)
	72h	700 (-0.21)	760 (0.06)	920 (0.79)

それぞれの数値はアイスクリーム試料 1 g 当りの菌数 (cfu/g) を示す。また括弧内の数値は得られた結果群を観察集団とした際の、個々の試験結果の Z 値を示す。

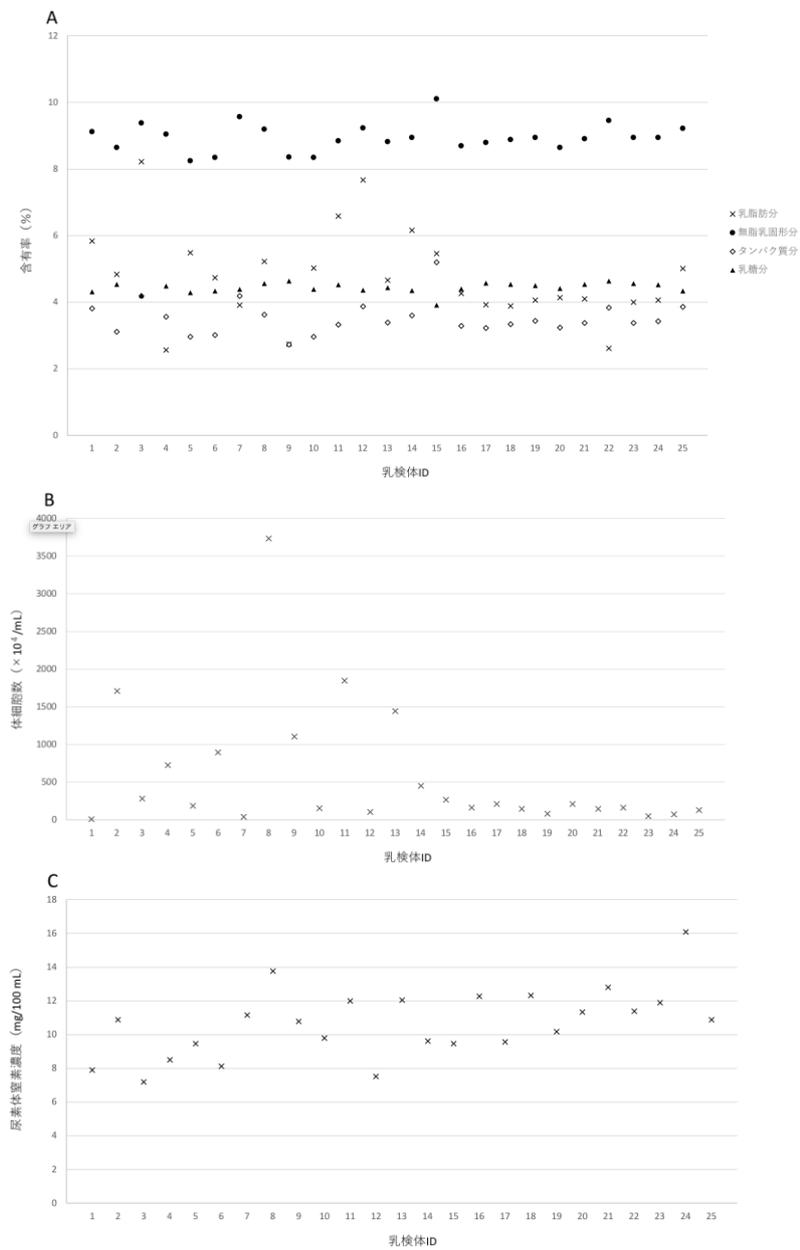


図 10 生乳試料の成分分析

各乳検体について乳中の乳脂肪分、無脂乳固形分、タンパク質分、乳糖分 (A)、体細胞数 (B) 尿素体窒素濃度 (C)、遊離脂肪酸濃度 (D)、乳中ケトン体濃度 (E) の解析結果を示した。

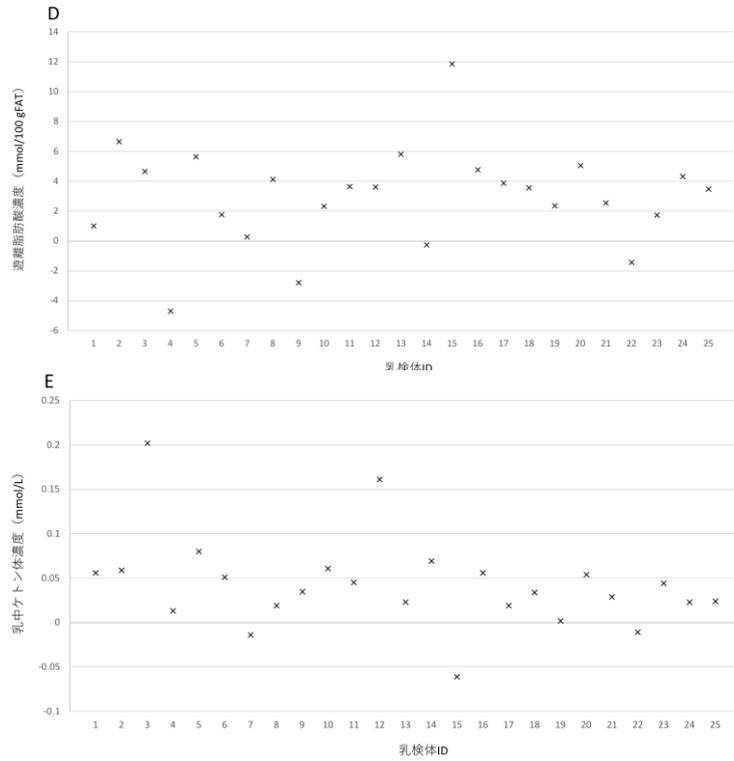


図 10 生乳試料の成分分析 (つづき)

各乳検体について乳中の乳脂肪分、無脂乳固形分、タンパク質分、乳糖分 (A)、体細胞数 (B) 尿素体窒素濃度 (C)、遊離脂肪酸濃度 (D)、乳中ケトン体濃度 (E) の解析結果を示した。

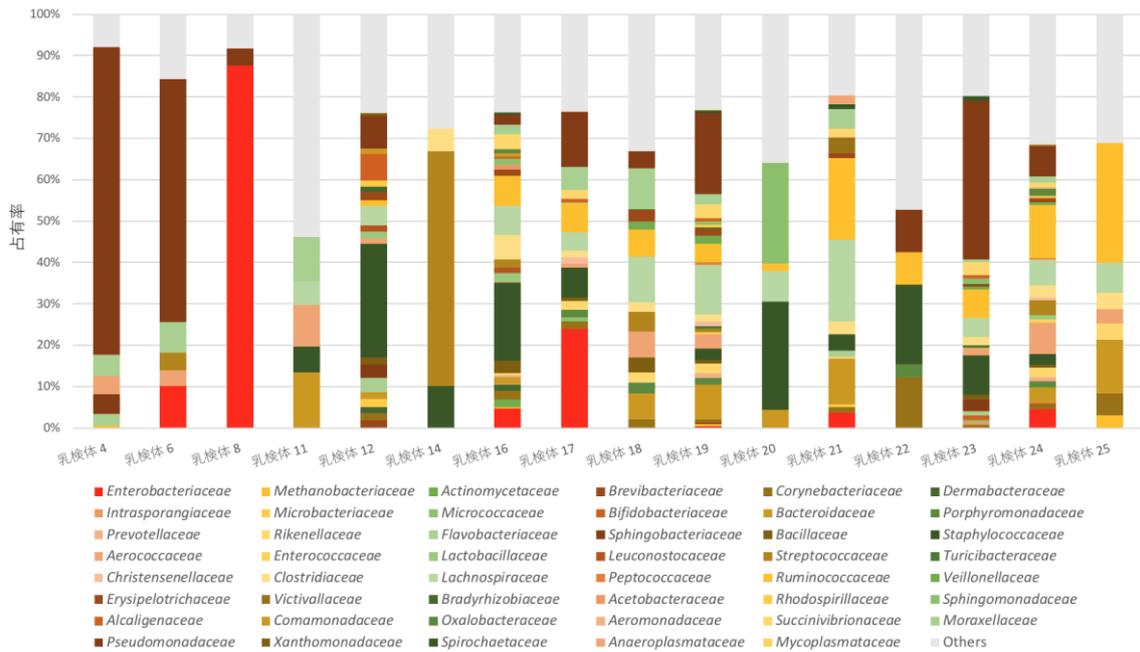


図 11 生乳試料の細菌叢解析

Family 階層における構成細菌叢の占有率をバーチャートで示した。

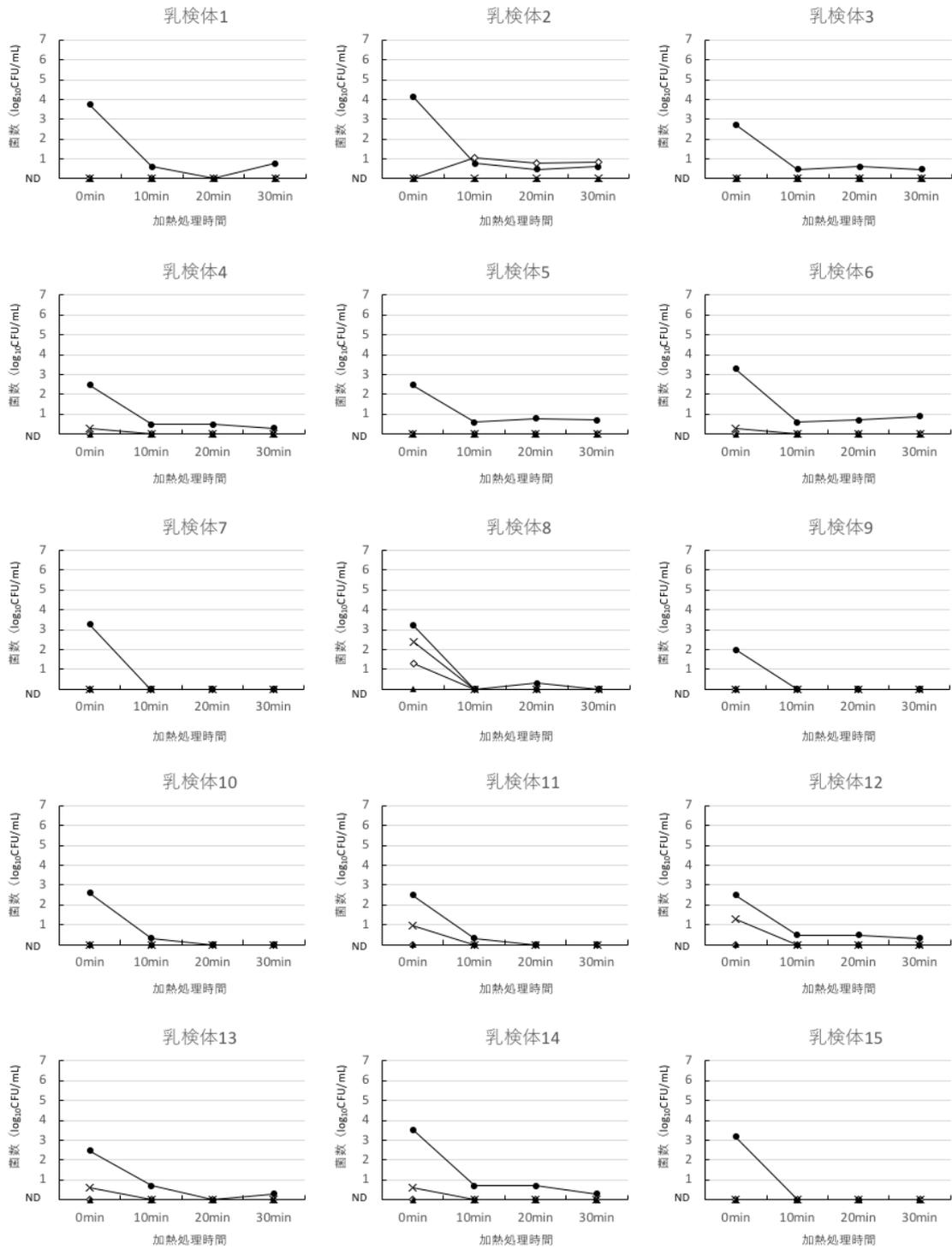


図 12 加熱殺菌前後の衛生指標菌数の動態

65°Cで各時間加熱処理した検体の一般生菌数 (●)、大腸菌群数 (◇)、大腸菌数 (▲) 及び腸内細菌科菌群数 (×) の検出結果を示した。NDは検出下限以下 (1 cfu/mL 未満) を示す。

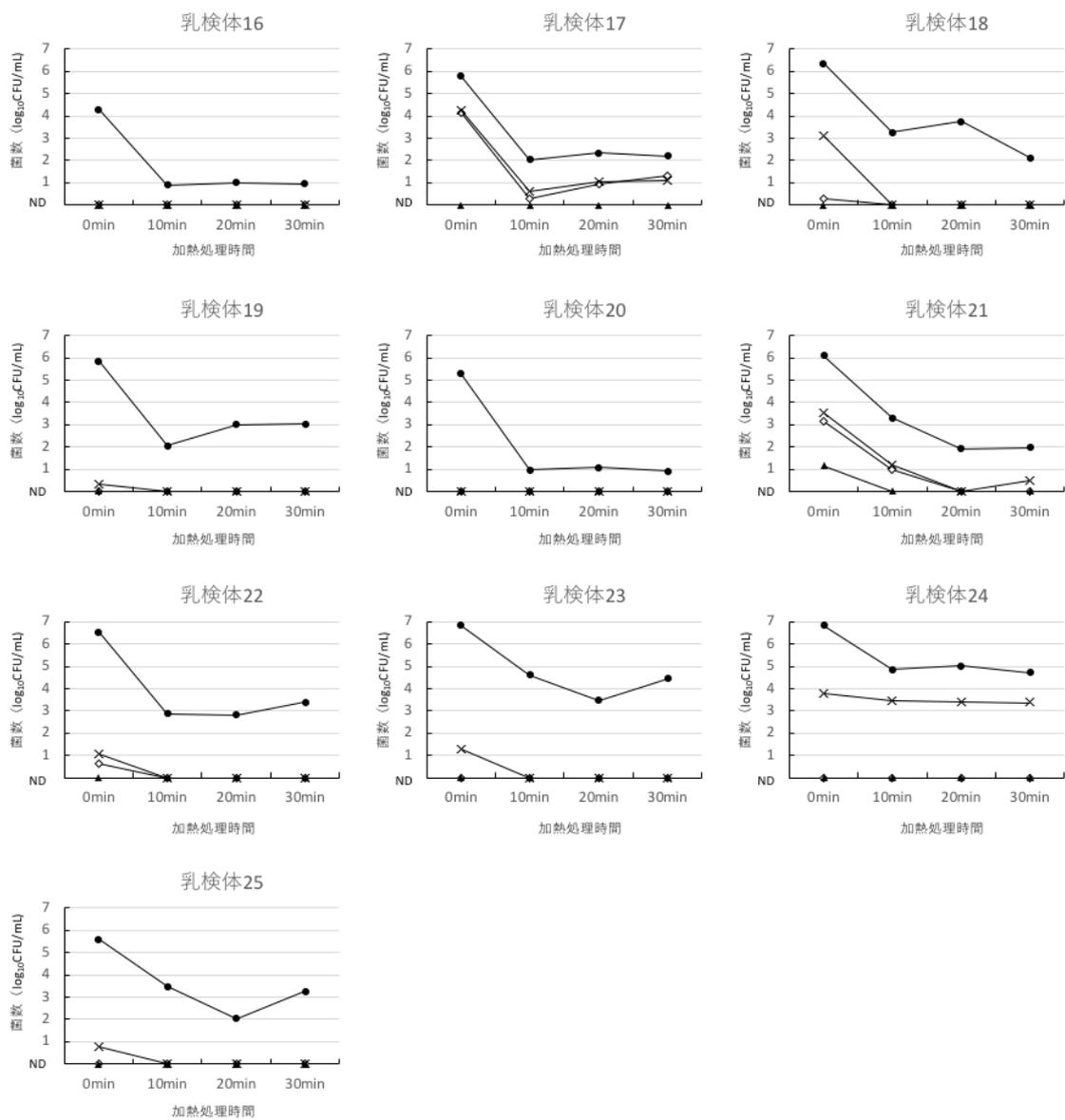


図 12 加熱殺菌前後の衛生指標菌数の減少動態 (つづき)

65°Cで各時間加熱処理した検体の一般生菌数 (●)、大腸菌群数 (◇)、大腸菌数 (▲) 及び腸内細菌科菌群数 (×) の検出結果を示した。NDは検出下限以下 (1 cfu/mL未滿) を示す。

