

沖縄県産黒糖の製造工程における微生物汚染リスク

広瀬直人、豊川哲也、小野裕嗣*1

沖縄県産黒糖の製造工程における微生物汚染リスクの解明を試みた。原料サトウキビの搾汁工程では一般生菌数が 10^7 cfu/mLオーダーで検出され、なかでも搾汁が貯留される混合汁タンクやマセレーションタンクにおいて乳酸菌によると考えられるジュースの品質劣化が観察された。清浄工程では一般生菌数、耐熱性菌数、および乳酸菌数が激減し、クリアジュース中に微生物は検出されなかった。しかし、濃縮工程から得られたハイシラップ中には再び微生物が検出された。清浄工程以前と濃縮工程以降では、一般生菌数と乳酸菌数および耐熱性菌数の比が異なるようであった。冷却攪拌工程では一般生菌が増加せず、清浄区域内で作業されている冷却攪拌～製品工程の環境中では、顕著な落下菌数は観察されなかった。これらの結果より、黒糖の製造では搾汁工程において乳酸菌による原料品質低下のリスクが示され、黒糖から検出される微生物は濃縮工程付近にリスクが存在すると推察された。

1 はじめに

黒糖（黒砂糖）は、沖縄県の基幹作物であるサトウキビ（*Saccharum spp. hybrid*）の搾汁液をそのまま加熱濃縮して製造される農産加工品である（図1）。県内では効用缶による濃縮工程を有する8か所のボイラー式工場で、年間約8,000 tの黒糖が製造されている。湿式トランスシュ除去装置の一種である浮上選別装置を備えた1か所の工場を除いて、工場に搬入されたサトウキビは洗浄工程を経ずに搾汁されるため、搾汁工程では原料由来の微生物汚染が懸念される¹⁾。また、サトウキビ搾汁は清浄工程で80～110℃、濃縮工程で60～100℃、仕上加熱工程では最大130℃の加熱を経て黒糖が製造される²⁾ため、微生物汚染のリスクは極めて低いイメージがあるが、黒糖から一般生菌が検出される場合がある。黒糖の品質向上を図るうえで、黒糖の微生物数を低減することは必須である。そのためには、黒糖の製造工程における微生物汚染リスクを明らかにする必要がある。そこで、黒糖製造における各工程について、微生物の汚染程度を評価した。

2 実験方法

2-1 黒糖製造工程からの試料採取

沖縄県内のA黒糖製造工場において、令和2年3月25日に(1)搾汁～清浄～濃縮工程、令和2年1月22日に(2)搾汁工程および(3)濃縮～冷却攪拌工程から無菌的に試料を採取した。試料の採取場所と概要を、表1および図1に示す。採取試料は保冷下で工業技術センターに持ち帰り、分析に供した。このほか、搾汁工程の現地調査を平成31年4月9～10日に実施し、搾汁のpH、Brixおよび純糖率を測定して搾汁の品質変化を評価した。

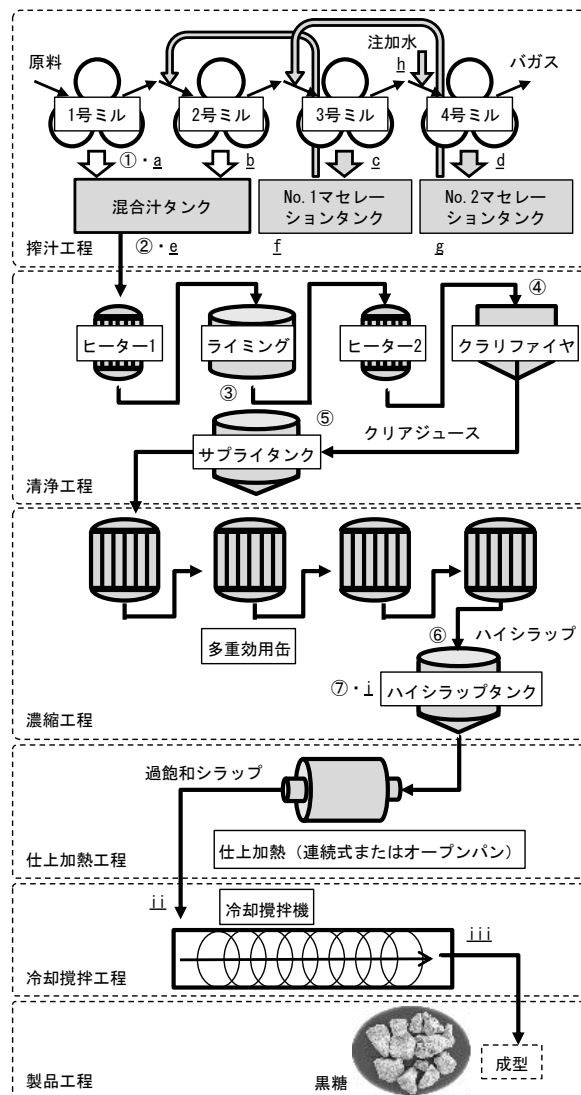


図1 黒糖の製造工程（模式図）

図中の番号および記号は、試料採取場所を示す。

*1 国立研究開発法人農研機構 高度解析センター

表 1 黒糖製造工程から採取した試料の概要

No.*	試料の採取場所	試料の概要
(1) 搾汁～濃縮工程		
①	1号ミル搾汁	原料由来
②	混合汁タンク	1号および2号ミル搾汁
③	ライミングタンク	第一ヒーター（約80℃）加熱後
④	クラリファイヤ入口	第二ヒーター（約110℃）加熱後
⑤	サブライタンク入口	クリアジュース
⑥	ハイシラップ	濃縮（60～100℃）加熱後
⑦	ハイシラップタンク	ハイシラップタンク（約80℃）
(2) 搾汁工程		
a	1号ミル搾汁	原料由来
b	2号ミル搾汁	原料および圧搾工程由来
c	3号ミル搾汁	〃
d	4号ミル搾汁	〃
e	混合汁タンク	タンク内の搾汁液
f	No.1マセレーションタンク	〃
g	No.2マセレーションタンク	〃
h	注加水	注加水用水（水道水）
(3) 濃縮～冷却攪拌工程		
i	ハイシラップタンク	ハイシラップタンク（約80℃）
ii	冷却攪拌機入口	仕上（最大130℃）加熱後
iii	冷却攪拌機出口	冷却攪拌後（約90℃まで冷却）

*図 1 中の各採取試料番号および記号を示す。

2-2 分析方法

分析は全て3連で実施し、その平均値を用いた。

(1) 搾汁～清浄～濃縮工程の採取試料：

試料を滅菌リン酸緩衝生理食塩水（サニスペック滅菌希釈水、アズワン）で適宜希釈した後に、一般生菌数、耐熱菌数および乳酸菌数の測定に供した。一般生菌数の測定には標準寒天培地（ニッスイ）を用い、試料を塗布した平板培地を35℃で48時間培養して出現したコロニー数をスパイラルプレーター（EDDY JET2、IUL）とコロニーカウンター（Flash&Go、IUL）を用いたスパイラル・プレーティング法³⁾で計測した。耐熱性菌数の測定は日渡らの方法⁴⁾を参考に行った。すなわち、試料を滅菌リン酸緩衝生理食塩水で10倍に希釈し、湯浴中で80℃・10分間加熱処理した。常温まで水冷した試料を用いて混釈法により標準寒天平板培地を作成し、35℃で48時間培養した後に出現したコロニー数を計測して耐熱性菌数とした。乳酸菌数の測定には乳酸菌迅速測定用プレート（ペトリフィルムLAB、スリーエム）を用い、試料を塗布したプレートの培養条件は35℃で48時間とした。

(2) 搾汁工程の採取試料：

試料を滅菌リン酸緩衝生理食塩水で適宜希釈した後に、乳酸菌迅速測定用プレートを用いて乳酸菌数を測定した。また、pHはpH計（B-212、堀場製作所）で測定した。Brixおよび純糖率は、ろ過助剤（特選スーパーライト、東京今野商店）を添加して清澄化した後にポータブル屈折旋光計（RePo-1、アタゴ）で測定した⁵⁾。

(3) 濃縮～冷却攪拌工程の採取試料：

試料を滅菌リン酸緩衝生理食塩水で適宜希釈した後に、

標準寒天培地を用いた混釈法で一般生菌数を測定した。なお、ハイシラップ（Brix 72.5）中の一般生菌数は、冷却攪拌工程から採取した黒糖試料にあわせてBrix 100あたりの数値に換算した。

2-3 清浄区域の環境検査

黒糖製造工場の清浄区域に設置されている冷却攪拌工程、製品工程の固形充填ラインおよび粒糖・粉糖製造ラインの計3か所について、「弁当及びそうざいの衛生規範（昭和54年6月29日、環食第161号、厚生省通知）」にしたがって落下菌を測定した。一般生菌には標準寒天培地、真菌にはPDA培地（メルク）を用い、いずれも直径9cmのシャーレに調製した平板培地を一般生菌数は5分間、真菌数は20分間開放して静置した。一般生菌数は35℃で48時間、真菌数は25℃で7日間培養した後に出現したコロニー数を計測し、シャーレあたりのコロニー数が一般生菌数では30個以下、真菌数では10個以下を「許容」、超えたものを「逸脱」と判定した。測定点数は冷却攪拌工程では冷却攪拌機周辺を中心に任意の4か所、固形充填ラインでは充填およびコンベア周辺の10か所、粒糖・粉糖製造ラインは製造ライン沿いに9か所とした。

3 実験結果および考察

3-1 搾汁工程から濃縮工程における微生物汚染状況

搾汁工程から濃縮工程の各採取試料より検出された一般生菌数、乳酸菌数、および耐熱性菌数を表2に示す。

表 2 黒糖製造の搾汁～濃縮工程における微生物汚染程度

No.*	試料の採取場所	菌数 (cfu/mL)		
		一般生菌	耐熱性菌	乳酸菌
搾汁工程				
①	1号ミル搾汁	5.7×10 ⁷	6.6×10 ³	4.6×10 ⁷
②	混合汁タンク	5.2×10 ⁷	5.0×10 ³	5.4×10 ⁷
清浄工程				
③	ライミングタンク	8.1×10 ⁴	1.7×10 ³	2.1×10 ⁴
④	クラリファイヤ入口	nd	nd	nd
⑤	サブライタンク入口	nd	nd	nd
濃縮工程				
⑥	ハイシラップ	8.3×10 ²	1.3×10 ²	6.0×10 ¹
⑦	ハイシラップタンク	2.1×10 ²	5.0×10 ¹	1.0×10 ¹

試料は令和2年3月25日に採取した。

*図 1 中の各採取試料番号を示す。

nd：コロニーの出現なし。

サトウキビ原料から最初に圧搾される1号ミル搾汁、および1号ミルの搾汁粕（バガス）に3号ミル搾汁を注加水して搾汁した2号ミル搾汁が混合されて次工程に送液されるジュースが貯留される混合汁タンクからは、一

一般生菌数と乳酸菌数がそれぞれ 10^7 cfu/mLオーダー、耐熱性菌数が 10^3 cfu/mLオーダーで検出された。

搾汁工程から清浄工程に送られたジュースは第一ヒーターで約 80°C まで加熱されてライミングタンクに送られ、石灰乳でpH7.2以上に調整される。さらに第二ヒーターで 110°C まで加熱されたジュースはクラリファイヤ（約 90°C ）で沈殿物を除去し、クリアジュースとなる。第一ヒーターで加熱されたライミングタンクのジュースでは一般生菌数および乳酸菌数が 10^4 cfu/mLオーダーまで減少したのに対し、耐熱性菌数は僅かに減少したのみであった。しかし、第二ヒーターによる加熱を経たクラリファイヤ入口、およびクラリファイヤで清澄化されたサブライタンク入口（クリアジュース）では、一般生菌、耐熱性菌、乳酸菌のいずれも検出されなかった。サトウキビを原料とした砂糖の製造工程においては、搾汁工程で微生物が増加し、加熱と清浄操作によって微生物が減少することが報告されており⁶⁾、今回の結果と一致した。

濃縮工程に送液されたクリアジュースは減圧下で多段濃縮を行う効用缶（A工場の場合、No. 1が約 95°C ～No. 4が約 59°C で濃縮を行う4重効用缶）によってBrix 70程度まで濃縮され、ハイシラップとなる。ハイシラップからは一般生菌数と耐熱性菌数が 10^2 cfu/mLオーダー、乳酸菌数が 10^1 cfu/mLオーダーで検出された。ハイシラップは 75°C 程度に保温されてハイシラップタンクに貯留されるが、タンク中のハイシラップからも、同程度のオーダーで微生物が検出された。清浄工程までのジュースから検出される微生物では一般生菌数と乳酸菌数のオーダーが同程度で耐熱性菌数が低かったが、ハイシラップでは一般生菌数と耐熱性菌数が同程度のオーダーで乳酸菌数が低くなり、微生物のパターンが異なるようであった。また、濃縮工程に供給されるクリアジュースでは微生物が検出されないことから、ハイシラップ中の微生物は濃縮工程中に由来するものと推測された。濃縮工程の多重効用缶は製糖期間中に数回アルカリ洗浄されるほか、予備の効用缶（A工場の場合は1基）切り替え式で運転して洗浄を行っていることから、効用缶そのものに汚れが付着することは考えにくい。一方で、切り替え式であるために複雑な配管の取り回しやバルブが増え、デッドスペースやバルブに付着した汚れが微生物汚染の要因になっていると考えられた。今後、濃縮工程を中心に汚染源特定や、配管の見直し等が必要である。

3-2 搾汁工程の乳酸菌汚染状況

サトウキビを原料とした製糖工場の搾汁工程における微生物汚染は、乳酸菌によるものが多いことが報告されている⁷⁾。そこで、搾汁工程における乳酸菌による汚染

を詳細に調査した（表3）。1号ミル搾汁では 10^6 cfu/mLオーダーで乳酸菌が検出された。1号ミルは原料が最初に搾汁されることから、原料由来の微生物を最も良く反映していると思われる。製糖工場では搾汁効率向上のために多段搾汁が行われているが、2号以降のミルではそのままでは圧搾できないため、最終ミル（A工場の場合は4号ミル）に供給されるバガスに水道水などを注加水して圧搾し、その搾汁を前段のミルに供給されるバガスに注加水して圧搾する²⁾。2号ミル以降の乳酸菌数はいずれも 10^6 cfu/mLオーダーで1号ミル搾汁と大きな差異は見られず、各ミル内での微生物汚染は生じていないことが示唆された。一方、各搾汁が貯留される混合汁タンクやマセレーションタンクからは搾汁より多い 10^7 cfu/mLオーダーの乳酸菌が検出され、タンク内で乳酸菌が生育していると推察した。なお、水道水を用いた注加水中の乳酸菌数は 10^1 cfu/mLオーダーであり、水道水をバガスに注加水するタンク内で若干の汚染が生じている可能性が考えられた。

表3 黒糖製造の搾汁工程における乳酸菌汚染程度

No. *	試料の採取場所	乳酸菌数 (cfu/mL)
a	1号ミル搾汁	3.5×10^6
b	2号ミル搾汁	8.3×10^6
c	3号ミル搾汁	4.5×10^6
d	4号ミル搾汁	1.4×10^6
e	混合汁タンク	1.1×10^7
f	No. 1マセレーションタンク	1.1×10^7
g	No. 2マセレーションタンク	1.8×10^7
h	注加水	1.0×10^1

試料は令和2年1月22日に採取した。

*図1中の各採取試料記号を示す。

各ミルの搾汁と各タンク中の搾汁について、pH、Brixおよび純糖率を測定した結果を表4に示す。各搾汁ともpH 5.0～5.1で大きな違いは見られず、Brixと純糖率は水道水を注加水して搾汁する4号ミルで低く、前段になるにつれて高くなった。一方、これら搾汁が貯留されるタンクでは、3号ミル搾汁が貯められるNo. 1マセレーションタンク、4号ミル搾汁が貯められるNo. 2マセレーションタンクのいずれにおいても、搾汁に対してタンク内に貯留されたジュースでpH、Brixおよび純糖率の低下が観察された。また、1号ミルと2号ミルの搾汁があわせて貯留される混合汁タンクでは各搾汁の比が一定しないことからBrixや純糖率からの考察は困難であるものの、pH低下が観察された。これらの結果より、各タンク内における乳酸菌の生育が強く示唆された。製糖工場における乳酸菌汚染は糖質の損失だけでなく、デキストラン

生成による工程への負荷増大や、乳酸など有機酸生成によるpH低下など、様々な影響が懸念される⁷⁾。前述のように、搾汁工程で検出される微生物は黒糖には移行しないと考えられるものの、微生物の生育による原料品質低下は避けられないほか、黒糖品質への影響も懸念される。黒糖の品質向上や高位安定を目指すためには、各タンクの形状や洗浄手順を見直し、微生物汚染を防止することが必要と考えられる。

表4 黒糖製造の搾汁工程における品質変化

No.*	試料の採取場所	pH	Brix	純糖率(%)
a	1号ミル搾汁	5.1	19.2	90
b	2号ミル搾汁	5.0	10.1	82
c	3号ミル搾汁	5.0	6.6	80
d	4号ミル搾汁	5.1	3.1	74
e	混合汁タンク	4.9	13.6	86
f	No.1マセレーションタンク	4.6	5.2	71
g	No.2マセレーションタンク	4.6	2.3	65

現地調査は平成31年4月9～10日に実施した。

*図1中の各採取試料記号を示す。

一般に、食品加工においては、原料の洗浄が加工工程中や製品の微生物低減に大きな効果を示すことが知られている⁸⁾。黒糖工場では原料の洗浄は行われていないが、沖縄県内にある8か所のボイラー式工場のうち1か所のみ湿式トラッシュ除去装置を装備している。本装置は黒糖の品質に大きな影響を及ぼすサトウキビの梢頭部が水に浮上することを利用して除去するが、石礫や土壌の分離にも効果を示す⁹⁾。微生物学的効果については未検討であるものの、原料の洗浄効果について、微生物学的検討が望まれる。

3-3 冷却攪拌工程の一般生菌数推移

冷却攪拌工程は、工程に供給される過飽和シラップの温度が130℃付近、冷却攪拌が終了したセメント状黒糖の温度が90℃程度であり、冷却攪拌中（所要時間は5～10分程度）に微生物が生育するリスクは低いが、攪拌機が開放形状であるため落下菌混入のリスクが考えられる。そこで工程中の一般生菌数を測定したところ、前工程の仕上加熱工程に供給されるハイシラップと、冷却攪拌機の入口および出口でそれぞれ採取した試料からは全て 10^3 cfu/mLオーダーの一般生菌が検出され、工程中に微生物汚染が生じる可能性は低いことが示された（表5）。この結果からも、黒糖中の微生物数を低減するためには、濃縮工程中の汚染源を特定して対策を講じることが効果的であることが推察された。

表5 黒糖製造の冷却攪拌工程における一般生菌数推移

No.*	試料の採取場所	一般生菌数 (cfu/mL)
i	ハイシラップタンク**	2.2×10^3
ii	冷却攪拌機入口	1.4×10^3
iii	冷却攪拌機出口	1.8×10^3

試料は令和2年1月22日に採取した。

*図1中の各採取試料記号を示す。

**ハイシラップ (Brix 72.5) 中の生菌数をBrix 100あたりに換算して表示した。

3-4 清浄区域の環境検査

清浄区域内の冷却攪拌工程、固形充填ライン、および粒糖・粉糖製造ラインで落下菌を測定した結果を表6に示す。一般生菌は全ての測定地点で「許容」となったが、真菌では冷却攪拌工程および充填ラインで1か所が「逸脱」と判定された。また、「許容」と判定された測定ポイントについて、製品工程では一般生菌と真菌共にシャーレあたりのコロニー数が0～7個であったのに対して、冷却攪拌工程は一般生菌が8～24個、真菌で7～9個と、いずれも高い傾向が見られた（データ省略）。今回の調査では、冷却攪拌工程における微生物汚染は見られなかったものの、現在は冷却攪拌時の冷却方法が送風ファンによる吹きつけ方式となっているものを蒸気や熱気の吸い出しに変更するなど、さらなる品質向上に向けた改善の余地が考えられた。

表6 黒糖製造工場の清浄区域環境検査

検査場所	検査地点数	検査結果			
		一般生菌数		真菌数	
		許容	逸脱	許容	逸脱
冷却攪拌工程	4	4	0	3	1
製品工程					
固形充填ライン	10	10	0	9	1
粒糖・粉糖ライン	9	9	0	9	0

検査は令和2年1月22日に実施した。

シャーレあたりのコロニー数が一般生菌数は30個以下、真菌数は10個以下を「許容」、超えたものを「逸脱」と判定した。

4 まとめ

黒糖製造工程における微生物汚染リスク解明を目的として沖縄県内の黒糖工場を調査した。搾汁工程では微生物汚染が顕著であり、特に搾汁を貯留するタンク内で乳酸菌による汚染と原料品質低下が懸念された。続く清浄工程における加熱処理で微生物は検出されなくなるものの、濃縮工程を経たハイシラップ中に再び微生物が検出され、濃縮工程における微生物汚染が示唆された。冷却攪拌工程では、微生物汚染増加は観察されなかった。冷

却攪拌工程と製品工程が設置された清浄区域の環境は良好であったが、冷却攪拌工程で環境中の微生物が多いようであった。今後は、他の7工場における微生物汚染リスクの解明を進め、黒糖品質の高位安定化技術開発を進めたい。

本研究は、「沖縄黒糖における微生物学的品質向上技術の開発（2019技013）」で実施した。

謝辞

本研究にあたり、沖縄県黒砂糖協同組合をはじめ多大なるご協力を賜りました関係の皆様へ感謝申し上げます。

参考文献

- 1) Nel, S., Microbial diversity profiling in sugarcane processing: what, why and how?, *Proc. S. Afr. Technol. Ass.*, **87**, 246-254 (2014).
- 2) 浜口栄次郎, 桜井芳人, 黒糖製造法, シュガーハンドブック, 朝倉書店, pp. 106-118 (1964).
- 3) 伊藤武, スパイラル・ブレーティング法, 食品衛生検査指針(微生物編), 厚生労働省監修, (社)日本食品衛生協会, pp. 68-71 (2004).
- 4) 日渡美世, 加納早緒里, 加藤丈雄, 乳酸発酵によるオカラの腐敗防止方法の開発, *日食科工誌*, **62** (12), 572-578 (2015).
- 5) 広瀬直人, 小野祐嗣, 前田剛希, 和田浩二, ポータブル屈折旋光計による純糖率測定に適したサトウキビ搾汁液の簡易清澄化法の検討, *南資源誌*, **33** (1), 43-50 (2018).
- 6) Chen, J. C. P. and Chou, C. C., Microorganisms in raw sugarhouse, *Cane Sugar Handbook*, 12th ed., John Wiley & Sons, Inc., pp. 641-650 (1993).
- 7) 渡邊健太, サトウキビの品質劣化に関する報告, *砂糖類情報*, (9), 47-55 (2017).
- 8) 泉秀実, カット野菜の微生物学的品質と微生物制御, *日食科工誌*, **52** (5), 197-206 (2005).
- 9) 社団法人糖業協会(編), 大型黒糖工場の設備, 現代糖業技術史(甘蔗糖編), 丸善プラネット, pp. 318-332 (2006)

Microbial contamination risk in the manufacturing process of non-centrifugal brown sugar "*Kokuto*" produced in Okinawa

Naoto HIROSE, Tetsuya TOYOKAWA and Hiroshi ONO*¹

Okinawa Industrial Technology Center

*¹Advanced Analysis Center, National Agriculture and Food Research Organization (NARO)

The microbial contamination risk in the manufacturing process of non-centrifugal brown sugar "*Kokuto*" produced in Okinawa was investigated. In the milling process of raw sugar cane, the viable bacteria count was 10^7 cfu/mL. In juice tanks, such as mixed juice and maceration tanks, the quality of the juice deteriorated. This was probably due to the growth of lactic acid bacteria. In the clarification process, the viable bacteria count, heat-resistant bacteria count, and lactic acid bacteria count were significantly reduced, and no microorganisms were detected in the clarification juice. However, microorganisms were detected again in the high syrup obtained from the concentration process. The ratios of viable bacteria to lactic acid bacteria and heat-resistant bacteria differed before the clarification process and after the concentration process. The viable bacteria count did not increase during the cooling and agitation process. Based on this study, there is a risk of deterioration of raw material quality due to lactic acid bacteria during the milling process in the production of *Kokuto*. Furthermore, there is a risk of microorganisms being contained in *Kokuto* during or after the concentration process.