

熱殺菌工学基礎 2 B

広田 鉄磨

食品品質
プロフェッショナルズ



Since 2016

食品安全の守護神

<http://qpfs.or.jp>



アジェンダ

- 「基礎2A」の復習
- トラブルの様々な
- 極みとしてのアセプティックでのトラブルシューティング
- 理解度チェック

アジェンダ

- 「基礎2A」の復習
- トラブルの様々な
- 極みとしてのアセプティックでのトラブルシューティング
- 理解度チェック

基礎2Aの復習

品質と熱殺菌のはざままで

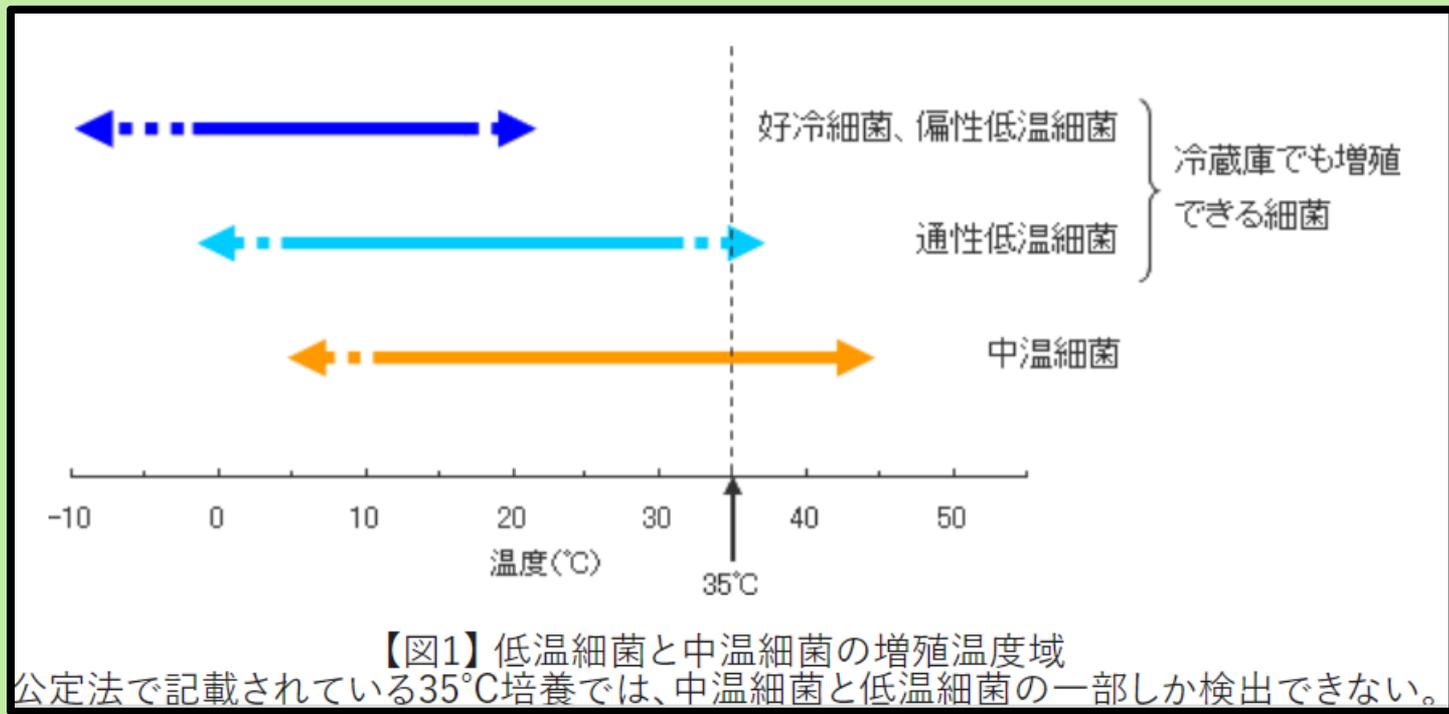
70年代から急速に

- 高度成長と相まって 産業界と家庭が手に手をつないで
- コールドチェーンを発展させていった
- そのため「フレッシュ」「新鮮」「生」が キーワードに

品質と熱殺菌のはざまで

- 消費者の味覚が「非加熱」あるいは「最小限の加熱」に慣れつつある
- 最小限の加熱と冷蔵の組み合わせ(あるいはCA、あるいは静菌剤とも組み合わせたりする)というマルチハードル食文化の席卷への対応が求められている
- 個人的には レジリエンスの観点から SDGsの観点から 本当に正しい方向かには疑問をもっている
- そのため 常温流通を前提とした商品設計では立ち行かない事態に至りつつある

低温芽胞菌の問題の浮上



品質と熱殺菌のはざまで

- 消費者の味覚が「非加熱」あるいは「最小限の加熱」に慣れつつある
- 最小限の加熱と冷蔵の組み合わせ(あるいはCA、あるいは静菌剤とも組み合わせたりする)というマルチハードル食文化の席卷への対応
- そのため 常温流通を前提とした商品設計では立ち行かない事態に至りつつある
- 冷蔵にボツリヌスを任せ 熱殺菌で対応するのは冷温芽胞菌という役割分担

低温芽胞菌

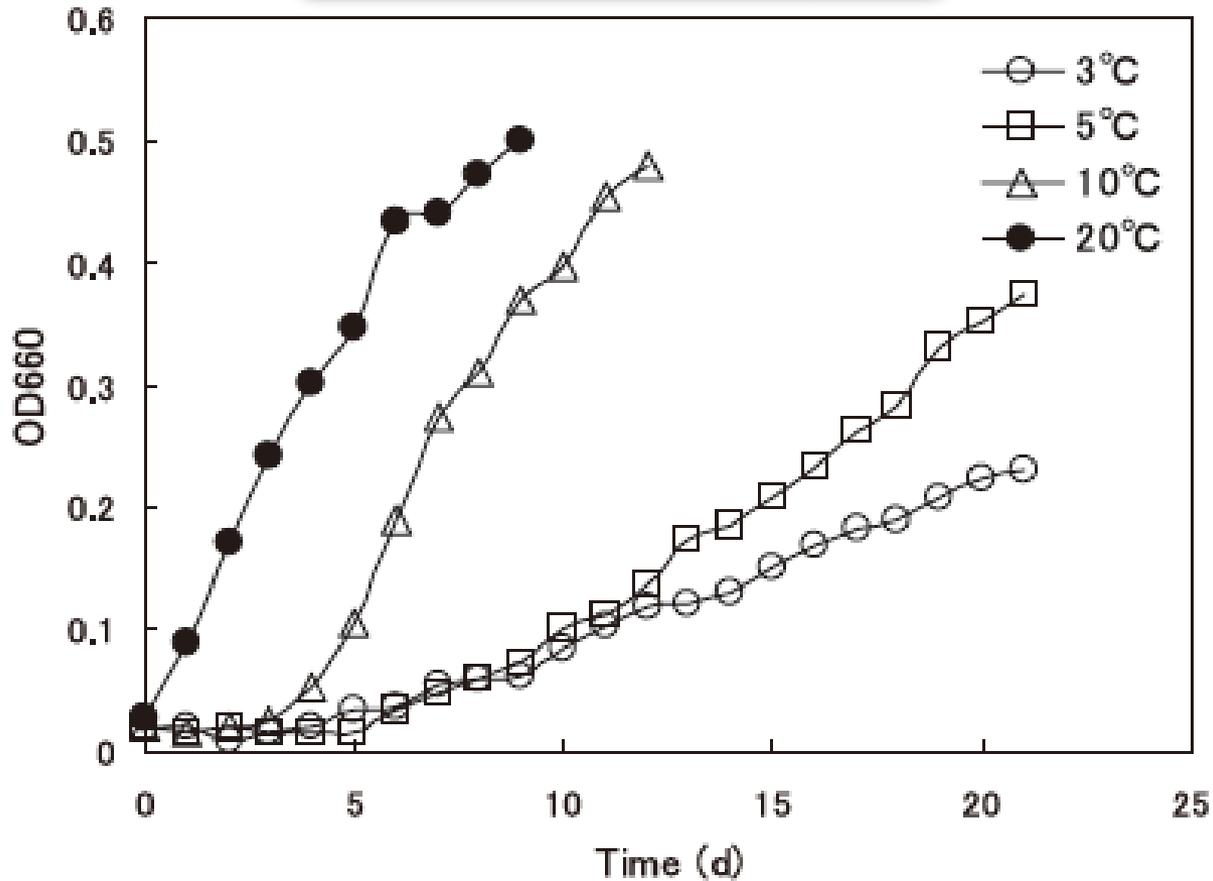


Fig. 2 Effects of temperatures on the growth of *Sporosarcina globispora*

Medium : trypticase soy broth (pH 7.3, NaCl 0.5%)

熱殺菌担当者としては

- ボツリヌスもウェルシュも熱では殺滅不能であることを認識しつつ
- *Sporosarcina globispora* の減少を図り
- 3°C以下の低温保管で ボツリヌスを抑え込み (ウェルシュは8°C以下でOK) かつ *Sporosarcina globispora* が 消費期限内に 顕著な増殖を起こさない設計とする
- 熱分布検証をおこなった 加熱機器の最冷点で
- 製品芯温を計測
- $D_{82.5}/7.6 = 24.6$ 分として 3D(文献では5D)達成条件を確立する

Table 2 Heat resistance of psychrophilic spore-forming bacterial spore

Species	D-value (min.)						z-value (°C)
	82.5°C	87.5°C	90°C	92.5°C	95°C	100°C	
<i>S. globispora</i>	24.6	3.8	—	1.2	—	—	7.6
<i>S. psychrophila</i>	—	—	3.6	—	1.5	0.5	11.7
<i>P. polymyxa</i>	—	—	—	1.5	0.7	0.3	13.3
<i>C. putrefaciens</i>	—	—	5.9	3.0	1.6	—	8.8

熱殺菌担当者としては

- ボツリヌスもウェルシュも殺滅不能であることを認識しつつ
- サルモネラの5D以上の減少を図り
- 5°C以下の低温保管で E型を除くボツリヌスを抑え込み (ウェルシュは8°C以下でOK) かつ サルモネラが消費期限内に発症閾値を超えない設計とする
- 熱分布検証をおこなった 加熱機器の最冷点で
- 製品芯温(最冷点温度)を計測:熱浸透検証
- D60/8 換算で30分と等価または以上となる芯温履歴を確立する
- 60°C未満では Z=5, 60°C以上では Z=8とするのが慎重派

➤ 熱分布検証をおこなった 加熱機器の最冷点で



どこのカタログ見ても
熱分布に気を使った例は無い

リザルトブログ

全トレーニーに低温調理器をお勧めする理由。具体的レ..

Images may be subject to copyright. Learn More

全体を通していえば

- (超)耐熱性芽胞菌から低温菌へのターゲットシフト
- 芽胞菌であっても冷蔵温度帯で発現する菌種・菌株へのターゲットシフト



クックバリューという考え方

- F値と極似、Dとzを変えるだけ
- 熱による細菌の殺滅ではなく
- 熱による品質劣化の指標(時には品質向上の指標)
- クッキング(調理)効果の目安
- しかし ことが官能的な評価なので 自分たちで この特徴のこれだけの変化には 何°Cで何分のクッキングが必要、それが 何°Cだったらどれだけ変化するという事前調査を必要とする

嗜好がことなるので 外国のクックバリューはあてにならない

代表例

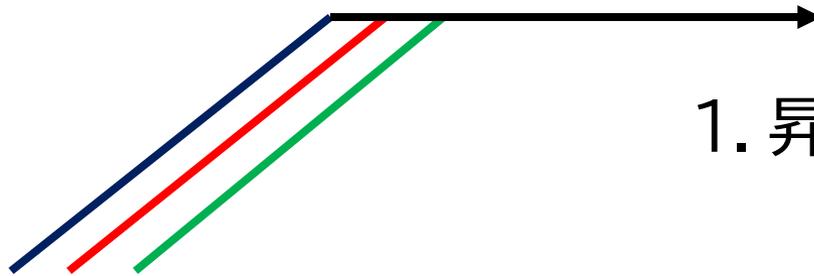
Phenomenon	z (°C)
heat denaturation of whey proteins	7
Bacillus stearothermophilus spores	10
Maillard reaction	13,5
heat denaturation of Casein	25

8) 滅菌・冷却

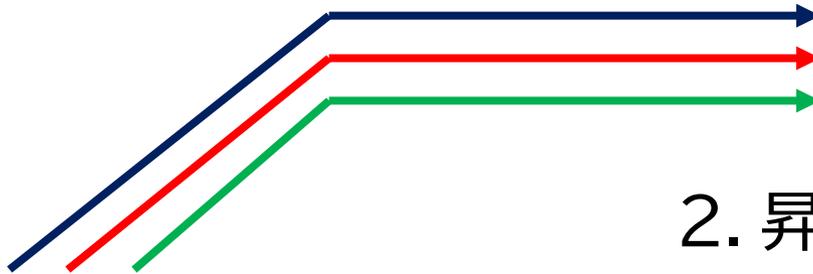
115～118℃で15～30分間加熱滅菌し、冷却します。

低温長時間レトルトの舞台

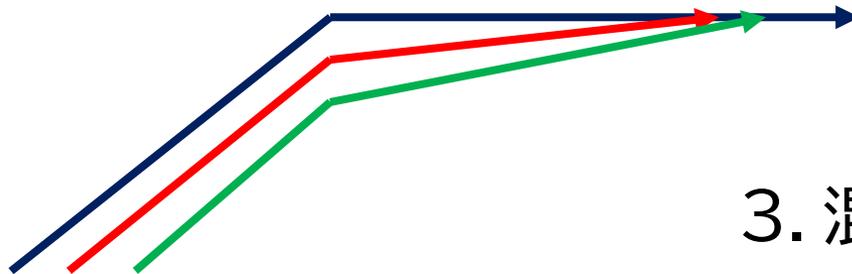
熱分布不均一の3つのパターン



1. 昇温が不均一だが達温は一定



2. 昇温・達温ともに不均一



3. 混合型

通常のレトルトは

- 大なり小なり 混合型といつてよい
- 殺菌価やクックバリューを望ましい範囲に落とし込むことができないのであれば レトルト内部全体の熱分布の改善を行わなければならないことになる
- 余談になるが 殺菌価は 芯温、クックバリューは 均一な製品で流動性の場合ほとんどどこでも同じ、均一で個体の場合包材の真裏、非常に熱に敏感な個体が流動物の中にある場合熱に敏感な個体の表面

dft STOCK
technology

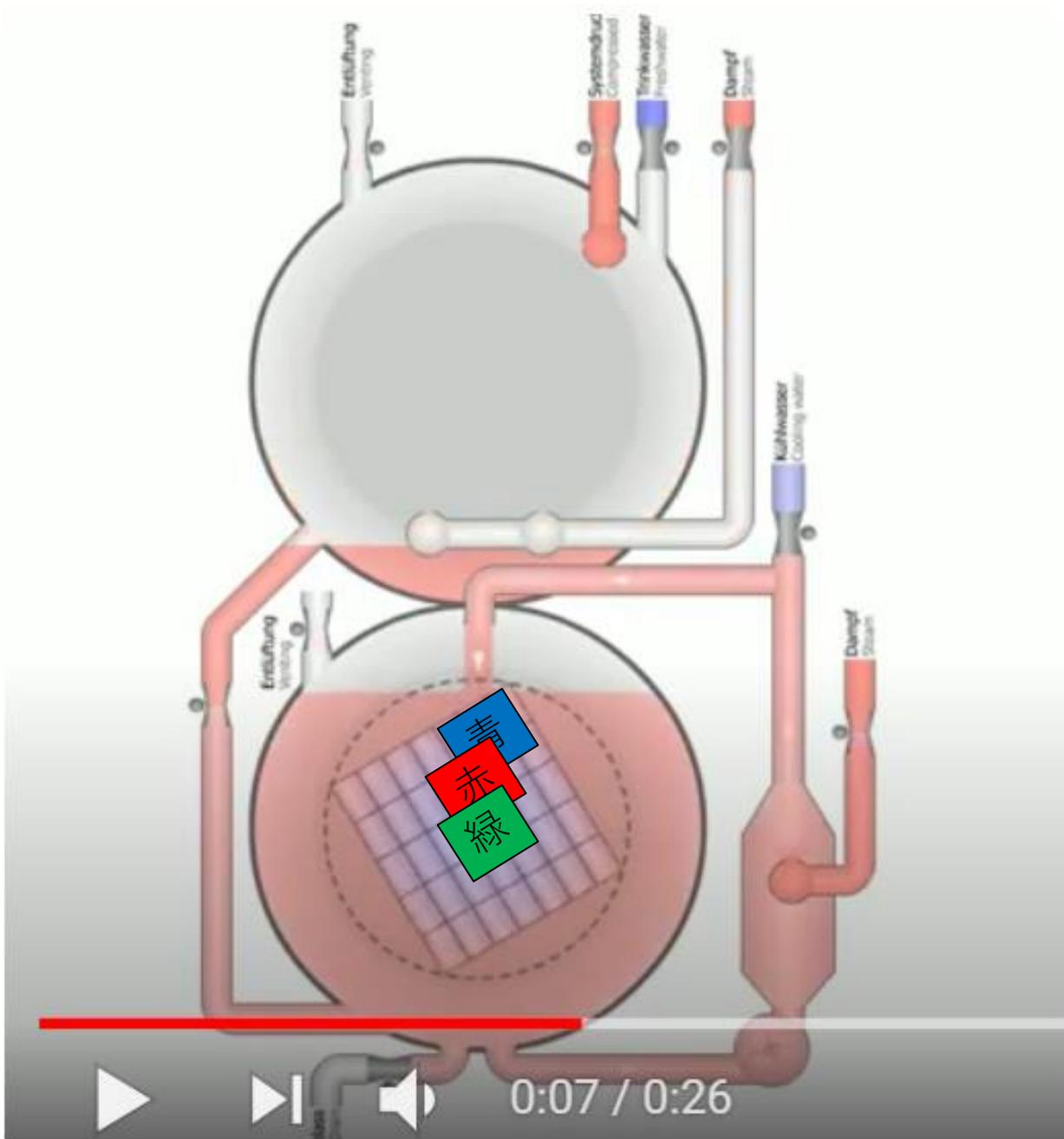
SRZ - System

The image shows a schematic of a rotary Fullwater immersion autoclave (retort) (Type SRZ) and a process curve graph. The schematic on the left illustrates the system's components, including a main chamber with a rotating basket, a heating jacket, and various pipes for steam and water. Labels in German identify parts like 'Erwärmung' (heating), 'Speisepumpe' (feed pump), 'Dampf' (steam), and 'Kühlwasser' (cooling water). The graph on the right plots Temperature (T) and Pressure (P) against time, divided into three phases: 'Heizen' (Come-Up), 'Halten' (Holding), and 'Kühlen' (Cooling). The temperature curve (T) rises during heating, remains constant during holding, and falls during cooling. The pressure curve (P) follows a similar pattern, with a slight increase during the holding phase. A video player interface at the bottom shows a progress bar at 0:09 / 0:26 and standard playback controls.

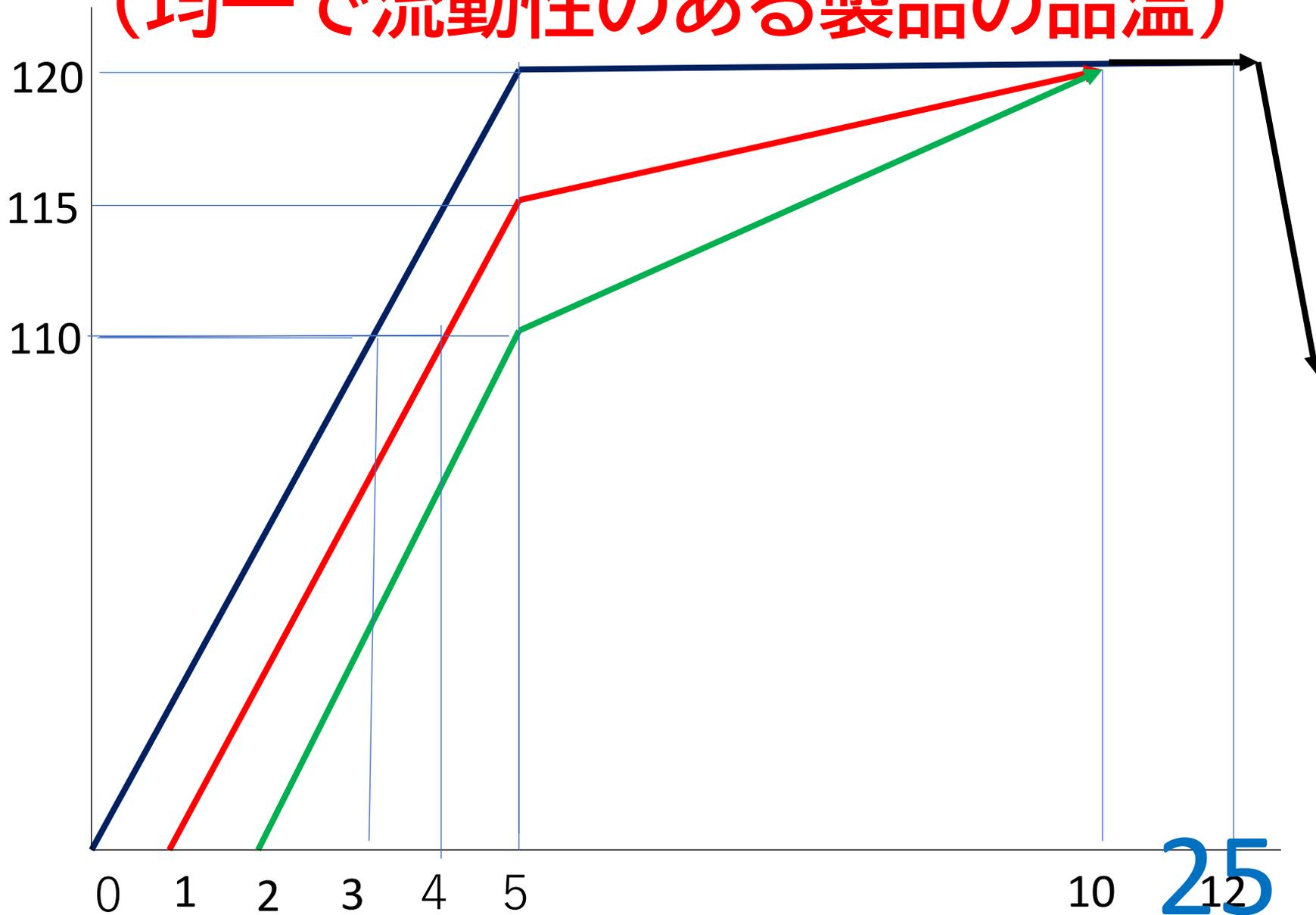
Schematic process flow of a rotary Fullwater immersion autoclave(retort) (Type SRZ)



<https://www.youtube.com/watch?v=cLtjgnIKGgA>



3. 混合型での演習 (均一で流動性のある製品の品温)



もし仮に・・・ $T_b = 121.1^\circ\text{C}$

評価項目	Z値	品質ガイドライン
F ₀ (ボツリヌス、耐熱芽胞菌の殺滅目的)	10	F ₀ > 4
メイラード反応	13.5	F _c < 8
乳清タンパク熱変性	7	F _c < 4
カゼイン熱変性	25	F _c < 7

品温の推移

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
青				110	115	120	120	120	120	120	120	120	120
赤					110	115	116	117	118	119	120	120	120
緑						110	112	114	116	118	120	120	120

青のFo

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
青				110	115	120	120	120	120	120	120	120	120

レポート F121.1/10計算 1分間隔測定 青いライン

To				110	115	120	120	120	120	120	120	120	120	120	120
Tb	121.1	121.1	121.1	121.1	121.1	121.1	121.1	121.1	121.1	121.1	121.1	121.1	121.1	121.1	121.1
To-Tb	-121.1	-121.1	-121.1	-11.1	-6.1	-1.1	-1.1	-1.1	-1.1	-1.1	-1.1	-1.1	-1.1	-1.1	-1.1
z	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
(To-Tb)/z	-12.11	-12.11	-12.11	-1.11	-0.61	-0.11	-0.11	-0.11	-0.11	-0.11	-0.11	-0.11	-0.11	-0.11	-0.11
t	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
t*10^((To-Tb)/z)	0.00	0.00	0.00	0.08	0.25	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78
F121.1/10	7.31														

赤のFo

レポート F121.1/10計算 1分間隔測定 赤いライン

To				110	115	116	117	118	119	120	120
Tb	121.1	121.1	121.1	121.1	121.1	121.1	121.1	121.1	121.1	121.1	121.1
To-Tb	-121.1	-121.1	-121.1	-11.1	-6.1	-5.1	-4.1	-3.1	-2.1	-1.1	-1.1
z	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
(To-Tb)/z	-12.11	-12.11	-12.11	-1.11	-0.61	-0.51	-0.41	-0.31	-0.21	-0.11	-0.11
t	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
$t \cdot 10^{((To-Tb)/z)}$	0.00	0.00	0.00	0.08	0.25	0.31	0.39	0.49	0.62	0.78	0.78
F121.1/10	3.68										

緑のFo

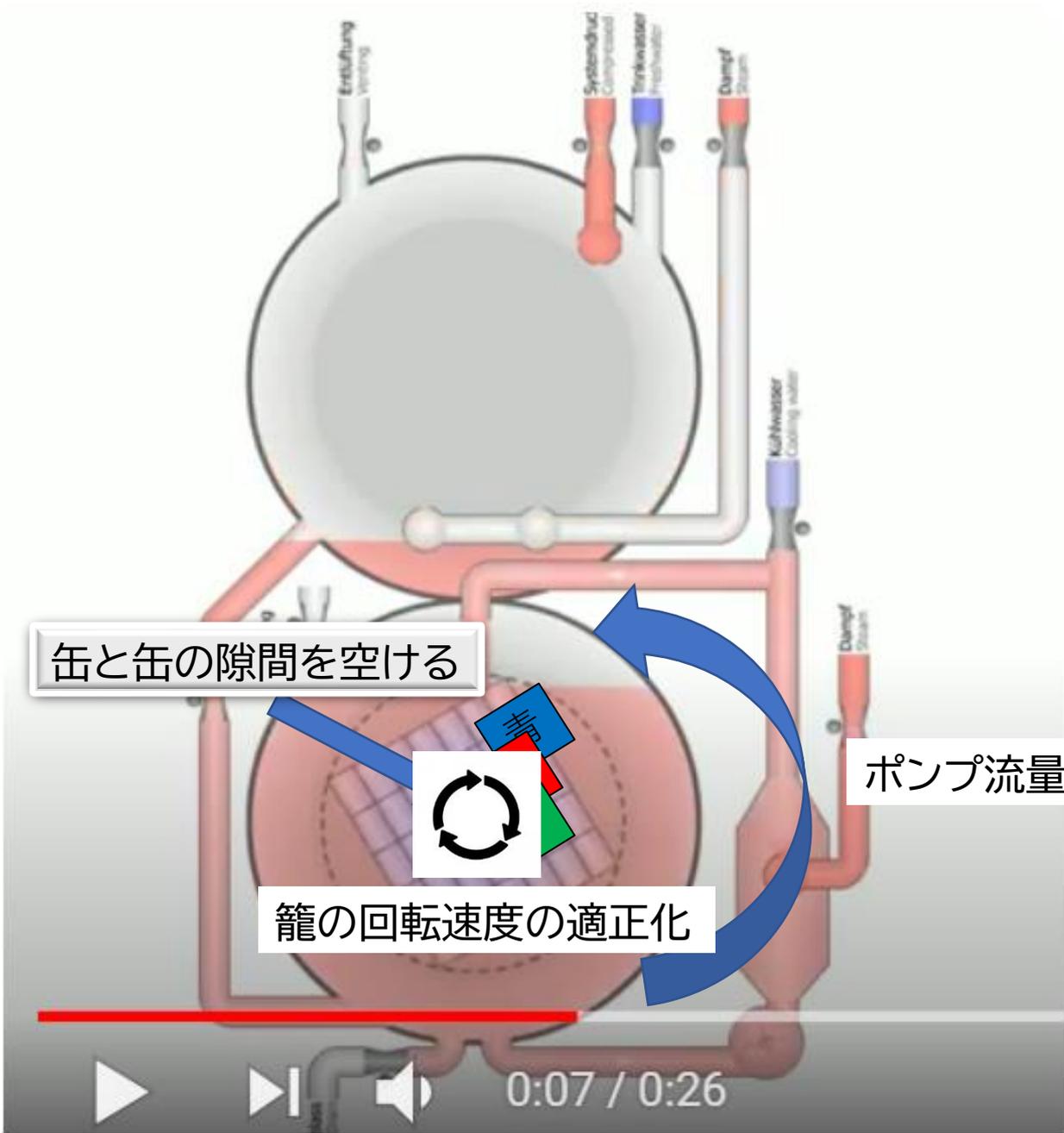
レポート F121.1/10計算 1分間隔測定 緑のライン

To					110	112	114	116	118	120	120
Tb	121.1	121.1	121.1	121.1	121.1	121.1	121.1	121.1	121.1	121.1	121.1
To-Tb	-121.1	-121.1	-121.1	-121.1	-11.1	-9.1	-7.1	-5.1	-3.1	-1.1	-1.1
z	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
(To-Tb)/z	-12.11	-12.11	-12.11	-12.11	-1.11	-0.91	-0.71	-0.51	-0.31	-0.11	-0.11
t	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
$t \cdot 10^{((To-Tb)/z)}$	0.00	0.00	0.00	0.00	0.08	0.12	0.19	0.31	0.49	0.78	0.78
F121.1/10	2.75										

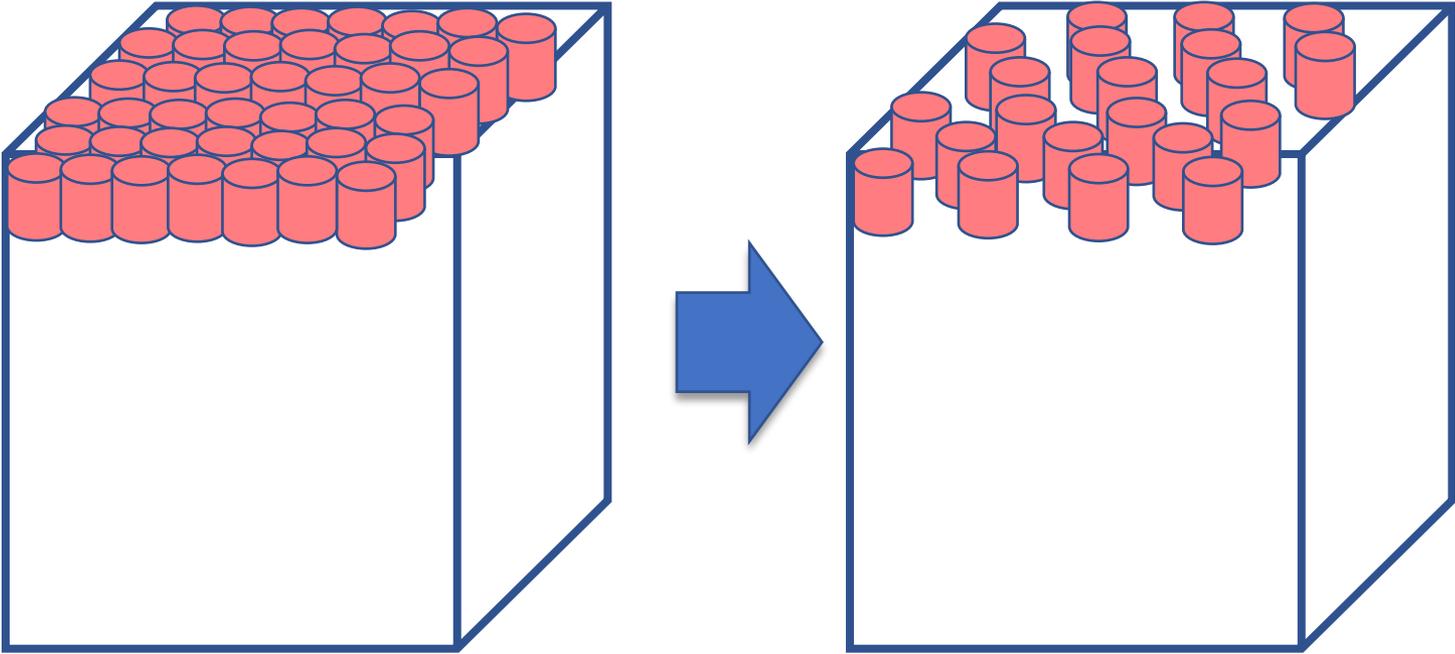
	Z値	ガイドライン	青い線	赤い線	緑の線
F ₀	10	>4	7.3 ↓	3.7 ↑	2.8 ↑
メイラード	13.5	<8	6.3	4.4	3.3
乳清熱変性	7	<4	5 ↓	2.9	2.1
カゼイン熱変性	25	<7	7.3 ↓	5.6	4.5

どうすればいいか？

- 赤と緑への熱水の到達を加速することが一番！
- 二番目に 120℃での保持時間をわずかに短くして青の乳清・カゼイン変性を抑える



缶と缶の間隙を空ける



アジェンダ

- 「基礎2A」の復習
- トラブルの様々な
- 極みとしてのアセプティックでのトラブルシューティング
- 理解度チェック

熱殺菌におけるトラブル

ホットパックでは

- 通常なし:あるとすれば
- 初心者による熱浸透検証の不足・不在
 - pHによってF値の計算式・目標値を変えないといけないという理解の不足・不在、ヘッドスペースは乾熱とながちな理解の不足、蓋材は汚染を蓄積しがちという理解の不足
- 初心者、中級者、上級者を問わず 想定されていない菌による汚染、包材の密封性不良

食品安全は絡んでいない

あくまで冗談だが実際に見聞したのはこれくらい

唯一の例外: 酵母の発生するガスによる 瓶の破裂



レトルトでは

- 通常なし:あるとすれば
- 初心者による 熱分布検証の不足・不在
熱浸透検証の不足・不在
メンテナンス不足・不備
レトルト冷却水の清浄度不足
- 中級者による 目標F値の限度以下への
引き下げ、レトルト運転条件の想定外変更
- 初心者、中級者、上級者を問わず 未殺菌製品
の殺菌後製品への投入、包材の密封性不良

食品安全が絡みがち

実際に見聞したところでは

- 初心者による 熱分布検証の不足・不在

静岡の委託先

メンテナンス不足・不備: 大分の委託先

レトルト冷却水の清浄度不足: マレーシアの委託先、ガーナの自社工場

- 中級者による 目標F値の限度以下への引き下げ、レトルト運転条件の想定外変更: フィリピンの自社工場、淡路島の自社工場
- 初心者、中級者、上級者を問わず 未殺菌製品の殺菌後製品への投入、包材の密封性不良
淡路島の自社工場

食品安全が絡みがち





④滅菌

しかしホットパック・レトルトでは

- プロセスが単純で 操作因子が少なく 機器側の異常が端的に結果への因果関係を結んでしまうため
- トラブルシューティングは かなり簡単な方に属する

忘れてはいけない：
レトルトでは食品安全が絡みがち

対してアセプティックでは

- プロセスが複雑で 操作因子が多い(内容物滅菌、包材滅菌、機器滅菌、無菌性の維持)、さらに殺菌に使用する媒体も 熱水、蒸気、過熱蒸気、空気と蒸気の混合物、乾熱、薬剤、ガス、放射線などの化学滅菌と多岐にわたる。
- 包材の密封性の確保は 高速、薬剤による阻害、軟包材が多くピンホールをつくりやすいため 困難であることが多い。
- 原因と結果の因果関係を突き止めることが困難

トラブルシューティングの「極」がここにある

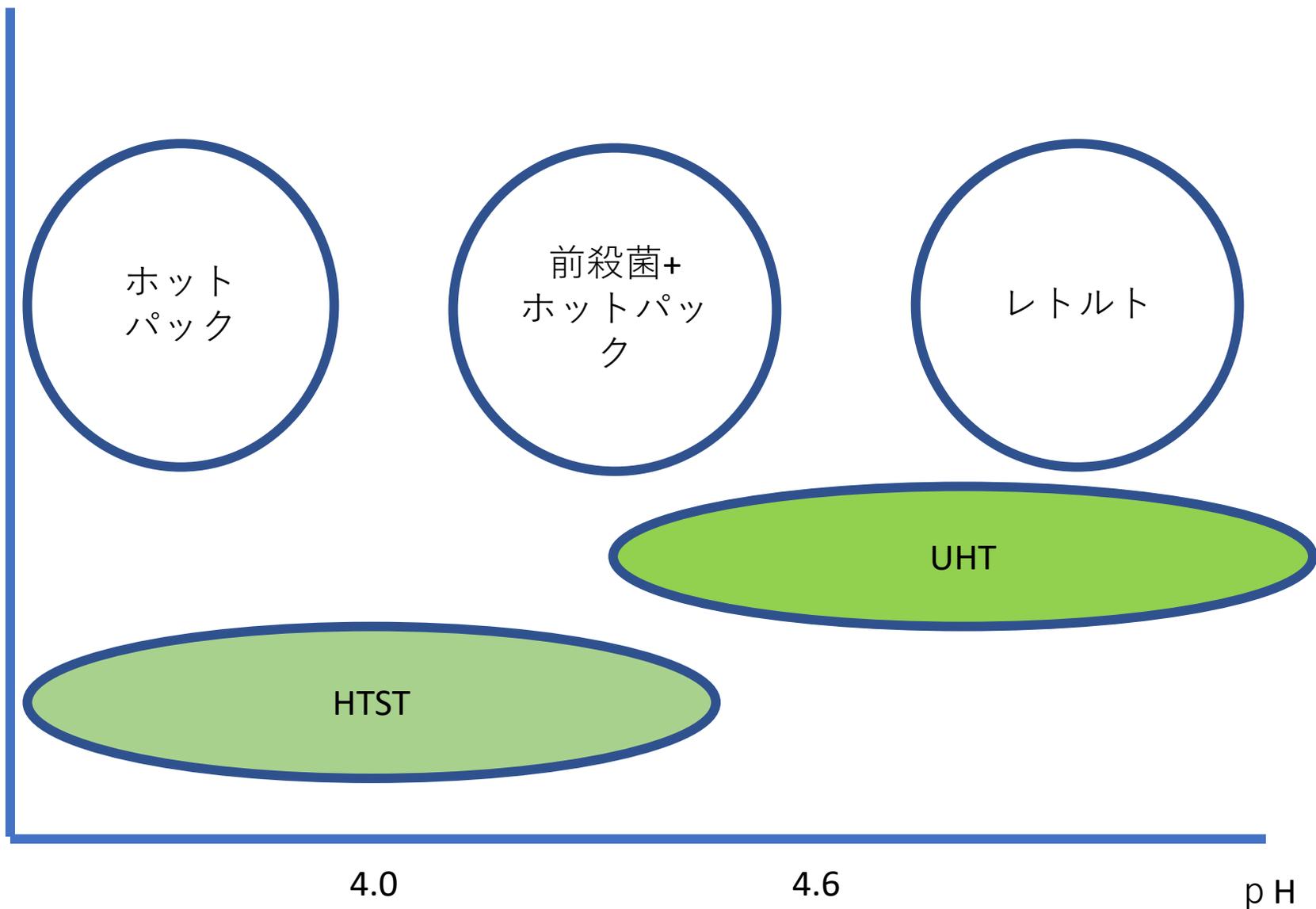
アセプティックの問題が

- 日本で話題にならないのは「常温流通品」であっても チルドの棚に置かれる、チルドの棚に置かないと売れない…という商習慣に覆い隠されているのが大きな背景要因
- ついで 日本の流通過程が「ジェントル」で短距離でしかないことが 次の背景要因
- おそらく 非常食としての常温保管が この闇をサーチライトで照らし出すことになるのでは？

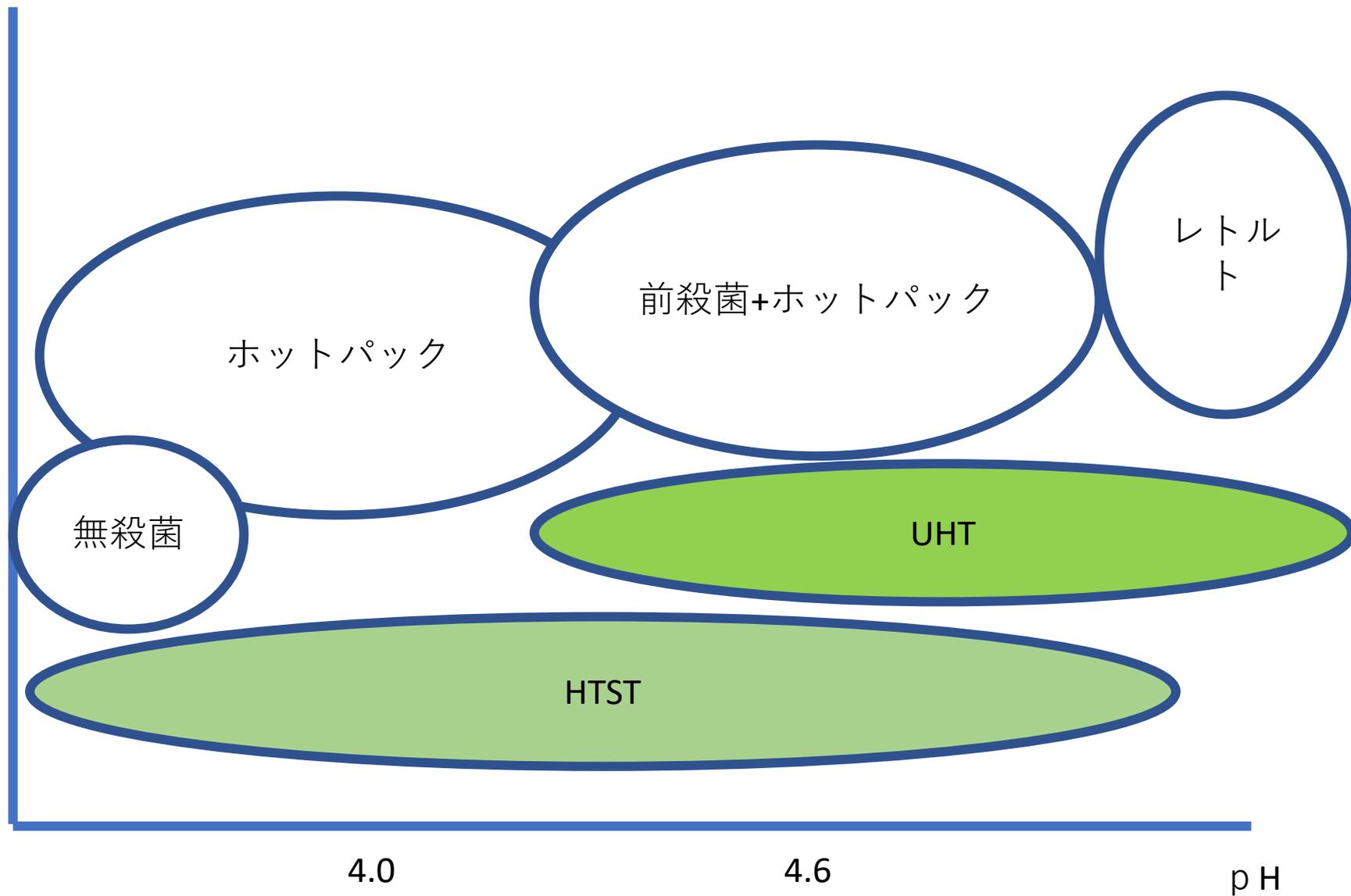
淡路島の自社工場

トラブルシューティングの「極」がここにある

基礎1の復習開始



水分活性 > 0.94、常温保存品

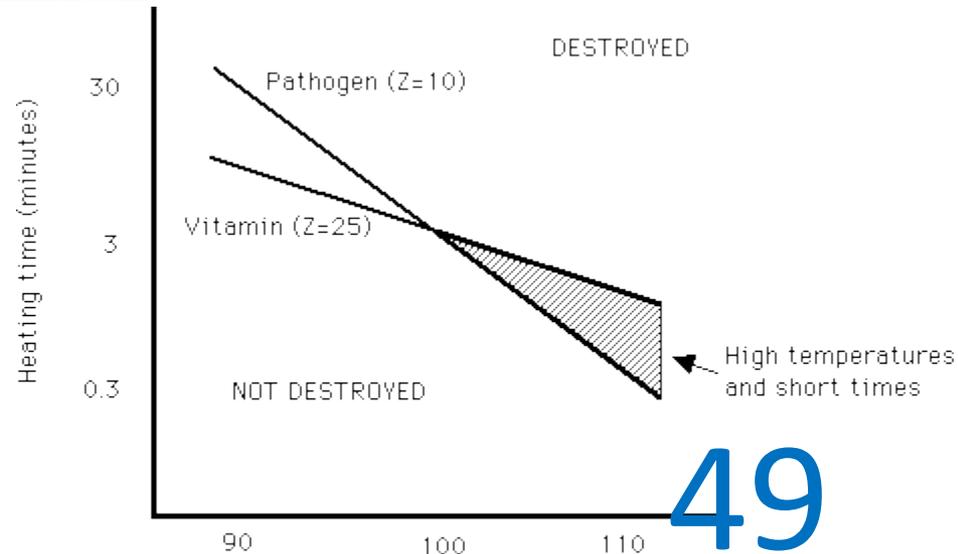


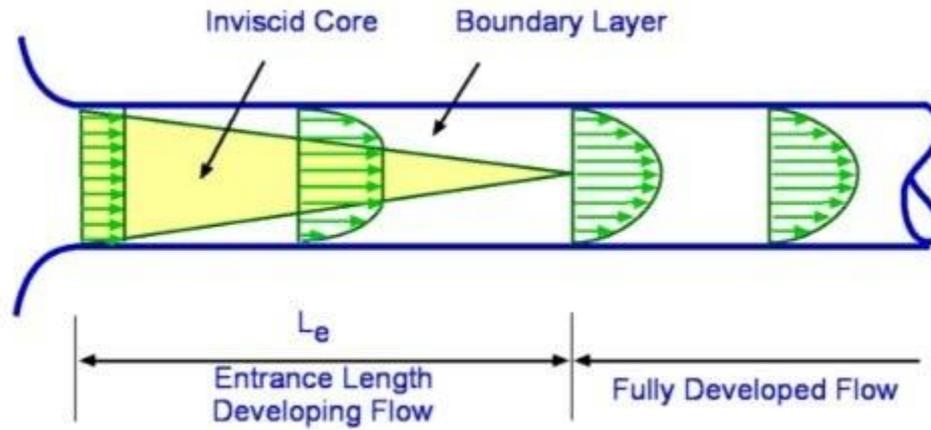
水分活性 > 0.94、要冷蔵品

なぜ高温短時間の方が通常好まれるか？

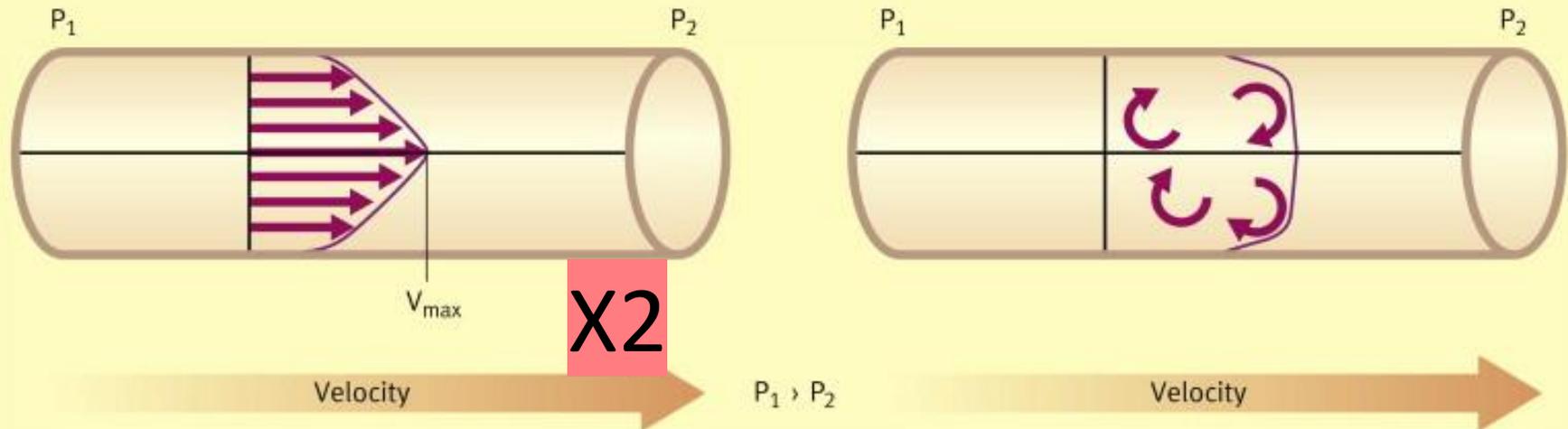
Phenomenon	z (°C)
heat denaturation of whey proteins	7
Bacillus stearothermophilus spores	10
Maillard reaction	13,5
heat denaturation of Casein	25

これがクックバリュー：
なにに着目するかでUHTの効果は
ポジティブにもなり、
ネガティブにもなる





Laminar and turbulent flow

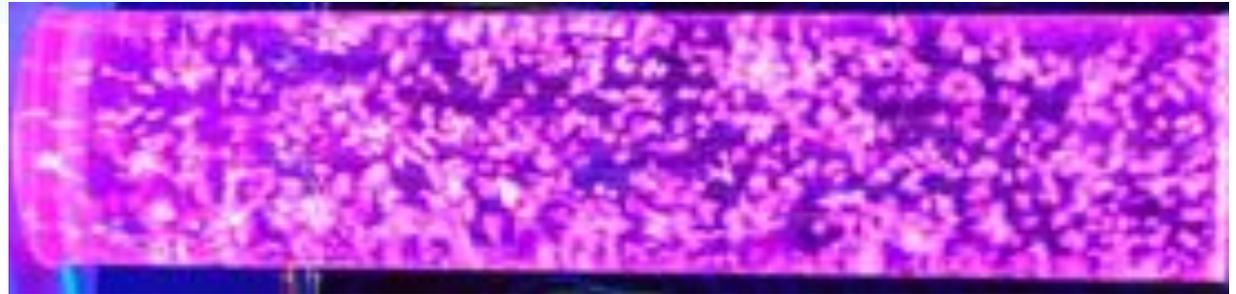


During laminar flow (smooth, steady flow) the flow profile is parabolic, with the fluid travelling most quickly at the centre of the tube and not moving at the edges of the tube. During turbulent flow (fluctuating and agitated flow) the flow profile is essentially flat, with all fluid travelling at the same velocity except at the tube edges where flow velocity is zero.

X1.2

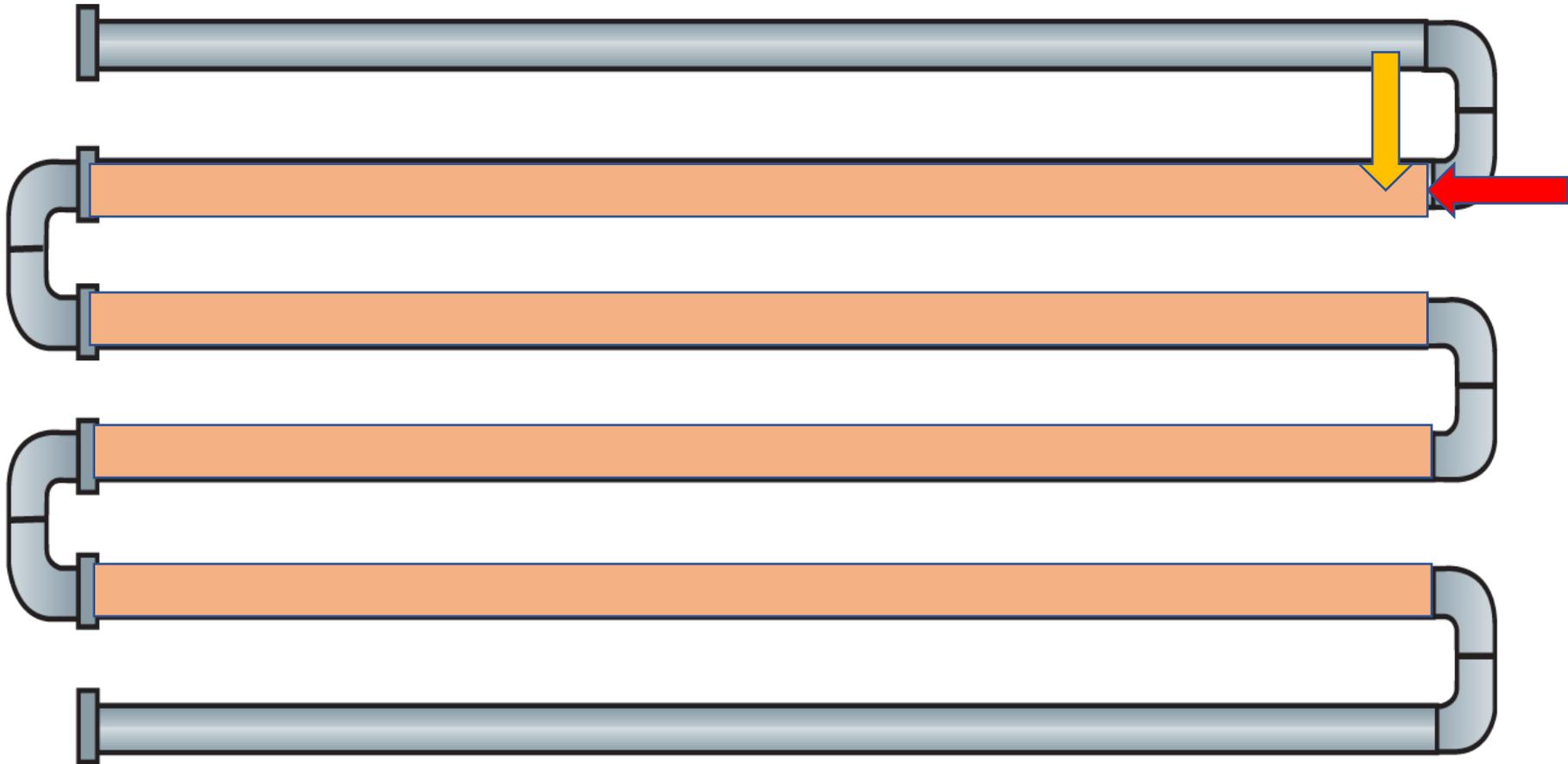


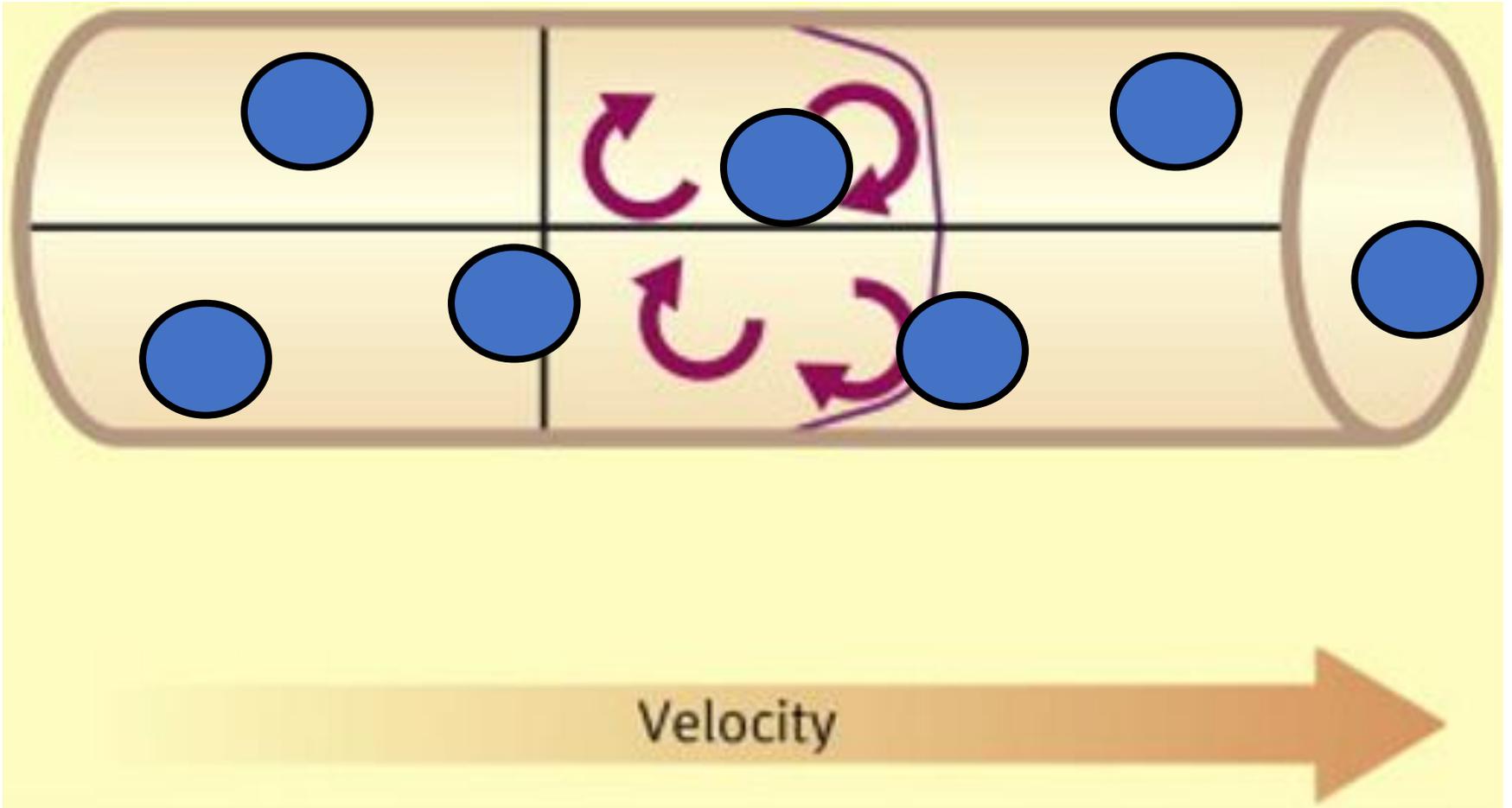
ホールディング
チューブの
狭窄



ホールディングチューブ内
での気泡発生

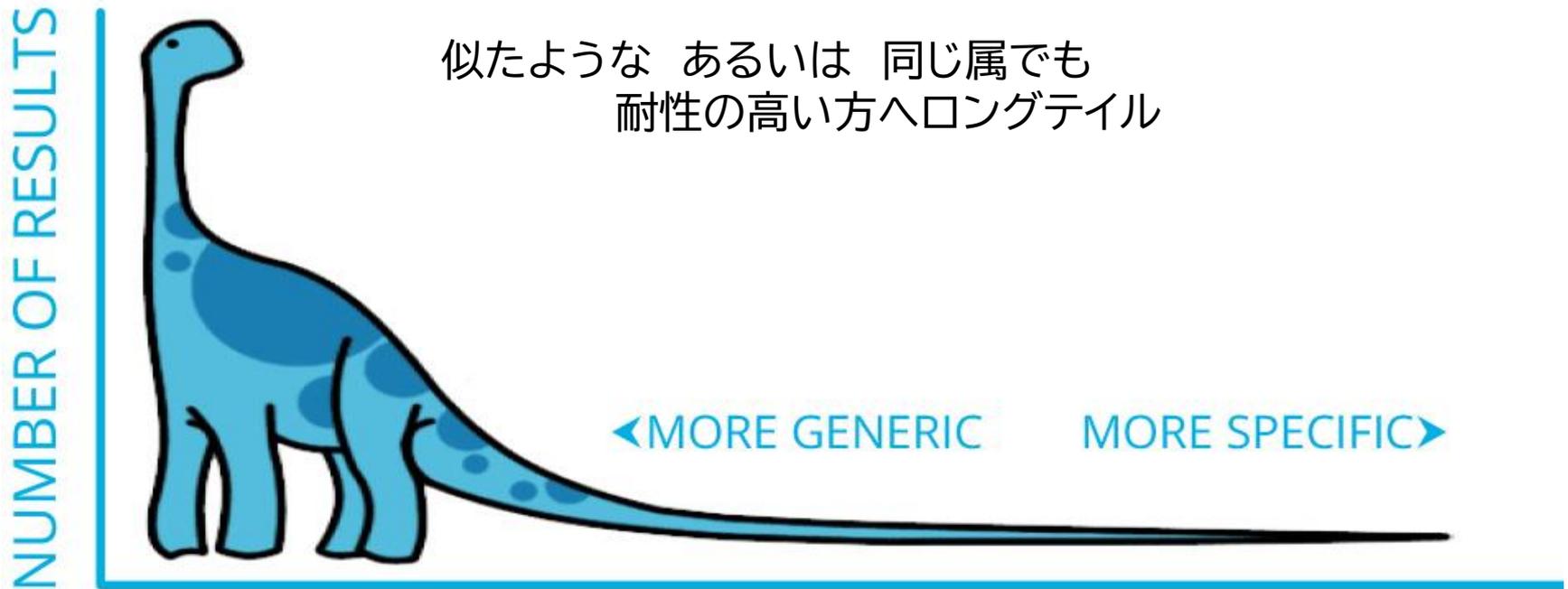






連続殺菌機で失敗することもある

- TABのように 想定以上の耐熱性を持つ菌に原材料が汚染されることもある
- 「砂漠の嵐」作戦のように 想定以上の保管温度による 耐熱性菌の発現で ミルクが凝固
- ロングテイル



基礎1の復習終了

基礎2Aの復習開始

アセプティックにおける妥当性確認 (包材)

日本には まったくガイドラインがない

海外のガイドラインを転用(通常 指標菌で
3D~4Dといわれる)

密封性の確保は前提条件:妥当性確認の前に
シール条件の確立を



Institute For Thermal Processing Specialists

Document G.005.V1

**GUIDELINES FOR MICROBIOLOGICAL VALIDATION OF THE
STERILIZATION OF ASEPTIC FILLING MACHINES AND
PACKAGES, INCLUDING CONTAINERS AND CLOSURES**

6.7. Determination of Microbiological Challenge Locations for the Packaging Material Sterilization

- 6.7.1. Depending on the technological solution adopted by the manufacturer, the packaging material may first be sterilized and then aseptically formed into packages, the packages may be formed under non-aseptic conditions and then be sterilized, or the packaging material can be pre-sterilized.
 - 6.7.1.1. Every spot on the surface of the packaging material or a preformed package may not receive the same sterilization.
 - 6.7.1.2. There may exist one or more spots on the surface of the packaging material, the “weakest point,” that is likely to receive the least sterilization dose.
 - 6.7.1.3. With the aid of physical, chemical and geometrical considerations, including fluid-dynamic modelling, the package or packaging material should be “mapped” to determine the weakest points.
 - 6.7.1.4. In principle, the microbiological validation could concentrate only on the weakest points, but it is advisable to challenge several spots to confirm that the weakest spots have been correctly chosen.

6.9. Develop a Protocol for Validation Testing

6.9.1. Test Methodologies for Microbiological Validation of Sterilization Processes

- 6.9.1.1. In general, microbiological validation provides evidence that the processes applied for machine and package sterilization deliver a LCR higher than a stated target value for a suitable test organism.
- 6.9.1.2. There are a variety of test methods that may be used for microbiological validation of any sterilization process. References are available that provide more detail on these methods. Generic information is provided in this document for the most common microbiological validation test methods.
- 6.9.1.3. Count Reduction Test – The Count Reduction test is based on knowing the initial count on the inoculated carrier/substrate and then recovering and enumerating the number of microorganisms that have survived the sterilization process. This method requires the presence (recovery) and enumeration of surviving test microorganisms. The experiment should be designed so that the colony forming units are in the countable range when the target LCR is achieved. Absence of surviving organisms indicates that the target LCR has been exceeded.

6.9.1.4. End Point Test – The End Point test is based on exposing inoculated carriers/substrates with known initial counts to the sterilization process, incubating the carriers/substrates using appropriate methods (e.g., media and growth temperature) and observing for growth of surviving microorganisms. A binary response—growth or no growth—is obtained, where “no growth” implies sterility of the sample. Estimation of mean survivor load is done using statistical tools when several replicate samples are available, some of which show growth. This method can also be applied to a single inoculated sample; in that case, no growth (sterility) of the sample is required for the test to be considered successful though the uncertainty associated with the binary information should be taken into account.

6.9.2. Identifying the Target Organism and the Target Log Reduction

- 6.9.2.1. The purpose of microbiological validation is to demonstrate that commercial sterility is achieved.
- 6.9.2.2. The identity of the target organism for the specific sterilization process and the required logarithmic cycle reduction must be determined, justified and documented.
- 6.9.2.3. The target organism is the pathogenic microorganism of public health concern that is most resistant to the specific sterilization process being employed.
 - 6.9.2.3.1. *Clostridium botulinum* has historically been considered the target organism for sterilization by moist heat, dry heat, and peroxide sterilization technologies.
 - 6.9.2.3.2. For some sterilization technologies, more than one target organism may also have to be considered, for example, *Bacillus cereus*.

Sterilization Process	Common Surrogate Microorganisms	Comments
Saturated Steam/ Superheated Water	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Clostridium sporogenes</i> - <i>Geobacillus stearothermophilus</i> 	<p>This sterilization process is unlikely to apply to the aseptic filler. Product pathway is a possible exception. Use of <i>G. stearothermophilus</i>, a thermophilic microorganism, is advantageous in that it eliminates and/or reduces the need for aseptic technique when recovering exposed carriers.</p>
Superheated Steam & Dry Heat	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Geobacillus stearothermophilus</i> - <i>Bacillus polymyxa</i> - <i>Bacillus atrophaeus</i>[†] 	<p>Microorganisms listed are used when mode of microbiological inactivation is dry heat.</p>
Hydrogen Peroxide + Heat	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Bacillus atrophaeus</i>[†] - <i>Bacillus subtilis</i> 	
Hydrogen Peroxide + UV	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Bacillus atrophaeus</i>[†] - <i>Bacillus subtilis</i> 	
Peroxyacetic Acid	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Bacillus atrophaeus</i>[†] - <i>Bacillus subtilis</i> SA 22 	<p>It is customary to use spores of these organisms when testing the effectiveness of packaging sterilization devices utilizing PAA (VDMA, 1997). No generally accepted surrogate organism has yet to be identified for compliance with US FDA regulations.</p>

IVLV

Industrievereinigung für
Lebensmitteltechnologie
und Verpackung e.V.



**VDMA-Documents
Food Processing Machinery
and Packaging Machinery**

Code of Practice

**Testing the Effectiveness of Aseptic
Plants Fitted with Packaging Sterilization
Devices**

Contents

1. INTRODUCTION	3
2. TERMS.....	4
3. SPECIFICATION OF TEST MICROORGANISMS FOR CHECKING PACKAGING STERILIZATION DEVICES IN ASEPTIC FILLING MACHINES.....	4
3.1 STERILIZATION BY MEANS OF HYDROGEN PEROXIDE	4
3.2 STERILIZATION BY MEANS OF STEAM.....	5
3.3 MEDIA FOR SUSPENDING SPORES.....	5
4. METHODS FOR INOCULATING THE PACKAGING	5
4.1 SPRAYING.....	5
4.2 APPLICATION BY PIPETTE	5
5. COUNT REDUCTION TEST.....	6
5.1 GENERAL PROCEDURE	6
5.2 TEST METHOD	6
6. END-POINT TEST	7
6.1 GENERAL PROCEDURE	7
6.2 TEST METHOD	7
7. TEST REPORT.....	8
8. USE OF THE CODE OF PRACTICE FOR CHECKING NONASEPTIC FILLING MACHINES FITTED WITH DEVICES FOR PACKAGING STERILIZATION.....	8
9. REFERENCES.....	8
10. STANDARDS CITED	9
APPENDIX I TEST MICROORGANISMS FOR ASEPTIC PLANTS	10
APPENDIX II COUNT REDUCTION TEST - WORKED EXAMPLE	11
APPENDIX III END-POINT TEST - WORKED EXAMPLE.....	12
APPENDIX IV CULTURE CONDITIONS FOR THE TEST STRAIN BACILLUS SUBTILIS SA 22 AND PREPARATION OF THE SPORE SUSPENSION.....	13

5.2 Test method

- i) Investigation of the critical process parameters prior to the test run is recommended (e.g. concentration of the hydrogen peroxide, temperatures)
- ii) Provision of at least 25 packaging units⁷ which for the test have been inoculated under the same conditions. Each packaging unit has an initial microorganism count of at least 10^5 spores for the test.
- iii) Determination of the initial count IC for 5 artificially infected packaging units from ii). To get out the microorganisms from the inner surface of the containers, they are rinsed with a test medium. On sheet packaging the microorganisms are removed by swabs in accordance with DIN 10113-2. Determination of the recovery rate RR in accordance with the following formula:

$$RR = 1/5(\sum(IC_i/IC)) * 100$$

IC_i : empirically determined initial count for packaging unit i ; $i = 1, \dots, 5$

IC: theoretical initial count.

- iv) Setting of the specified machine parameters. It is advisable for the machine manufacturer and the machine operator to jointly agree the parameters.
- v) Introduction of at least 20 infected packaging units into the filling machine. In multiline filling machines the infected packaging units have to be uniformly distributed across the individual lines with the filling line to be mentioned on the individual packaging units. When there are more than 2 lines it has to be ensured that at least 10 packaging units can be investigated on each line. The total number of packaging units to be introduced has to be correspondingly increased.

- v) Introduction of at least 20 infected packaging units into the filling machine. In multiline filling machines the infected packaging units have to be uniformly distributed across the individual lines with the filling line to be mentioned on the individual packaging units. When there are more than 2 lines it has to be ensured that at least 10 packaging units can be investigated on each line. The total number of packaging units to be introduced has to be correspondingly increased.
- vi) Carrying out the test run. If possible the packaging units should be filled during the test run to 25 % of the nominal filling volume with sterile skimmed milk cooled to room temperature or a sterile, pipettable or filterable liquid. The packaging units are to be cooled immediately after filling. The test data are then documented.
- vii) If during the test run the packs are not filled with a test medium the sterilized packaging units are to be passed on as quickly as possible after the test run for microbiological analysis in order to avoid falsification of the test results.⁸
- viii) Determination of the survivor count (SC) for each of the artificially infected packaging units.
- ix) Calculation of the microorganism count reduction (for worked example see Appendix II).

Code of Practice

Testing the Effectiveness of Aseptic Plants Fitted with Packaging Sterilization Devices

$$\begin{aligned} \text{Mean logarithmic count reduction} &= \\ \log(\text{Initial count}) - \log(\text{Final count}) &= \\ \log(IC) - \log\left[\frac{1}{PU} \sum SC_j \cdot 100 / RR\right] \end{aligned}$$

PU: Total number of artificially infected packaging units examined

In the case of multiline filling machines analysis of the results from the individual lines is recommended.

x) The test yields a positive result when for each line investigated at least the mean count reduction previously set is achieved.

6.1 General procedure

In the end-point test the packaging is also artificially inoculated with test microorganisms as in the count reduction test but in this case in three graduated infection stages each being greater by a power of ten than the one before.

The main difference with respect to the count reduction test is that in the end-point test the artificially infected packaging is filled with a sterile culture medium matched to the test microorganism and after an incubation phase only the number of unsterile packaging units is determined. Beyond the effectiveness of the packaging material sterilization the end-point test provides information about the entire process from supplying the product and filling through recontamination-free closure of the packs.

6.2 Test method

- i) Performance test using packaging units which have not been artificially infected⁹ (optional).
- ii) Provision in each case of at least 100 packaging units selected for the test each unit having an initial microorganism count of 10^2 , 10^3 or 10^4 spores of the test microorganism.^{10, 11}
- iii) Uniform distribution of the packaging units over the packaging lines in the case of multiline filling machines.
- iv) Setting of the predetermined machine parameters. It is advisable for the machine manufacturer and the machine operator to jointly agree the parameters.
- v) Test run using the test medium (e.g. sterile skimmed milk or a culture medium matched to the test microorganism). Incubation of the closed packs (at least one week at 30 °C)¹². The number of unsterile packs is then determined. Unsterile packs are to be investigated with regard to the microorganisms which occur.¹³
- vi) Determination of the mean logarithmic count reduction for each of the three levels of contamination according to the following formula¹⁴ (for worked example see Appendix III):

Mean logarithmic count reduction =
log (Initial count per pack) – (log ln (Number of packs tested/Number of sterile packs))

- vi) The test yields a positive result when at least the previously established value for the mean count reduction is achieved for each test series.

アセプティックにおける妥当性確認 (機器)

日本には まったくガイドラインがない

海外のガイドラインを転用



VDMA - Documents
Food Processing Machinery and Packaging Machinery

Code of Practice

**Testing Aseptic Plants: Sterilizing the
Sterile Zone in a Machine Interior**

4.2 Test method

- i) Prior to the test the points in the sterile zone of the machine interior relevant for sterilization and hence to be checked have to be identified. In doing so the involvement of the machine manufacturer is advisable.
- ii) Preparation of the required numbers of test strips respectively inoculated with 10^5 , 10^4 and 10^3 microorganisms (for instructions see Appendix II).
- iii) Introduction of the test strips into the clean and dry machine paying particular attention to the relevant positions for sterilization identified under i).

Appendix I

Test microorganisms for aseptic plants

Survey by Bernard et al. (1990)

Sterilization method	Test microorganism
Superheated steam	Bacillus stearothermophilus B. polymyxa
Dry heat	B. stearothermophilus
H ₂ O ₂ + heat	B. subtilis A or B. subtilis var. globigii
H ₂ O ₂ +UV	B. subtilis A.
Heat of formation	B. stearothermophilus
Gamma radiation	B. pumilus
Wet heat	B. stearothermophilus Clostridium sporogenes

アセプティックにおける妥当性確認 (機器)

アセプティックタンク、パイプラインなどは
通常（蒸気・熱水などでの）「湿熱」滅菌

蒸気や熱水で洗い流されてしまう為
Geobacillus stearothermophilus 芽胞を塗
り付けたストリップテープなどは 役に立たない

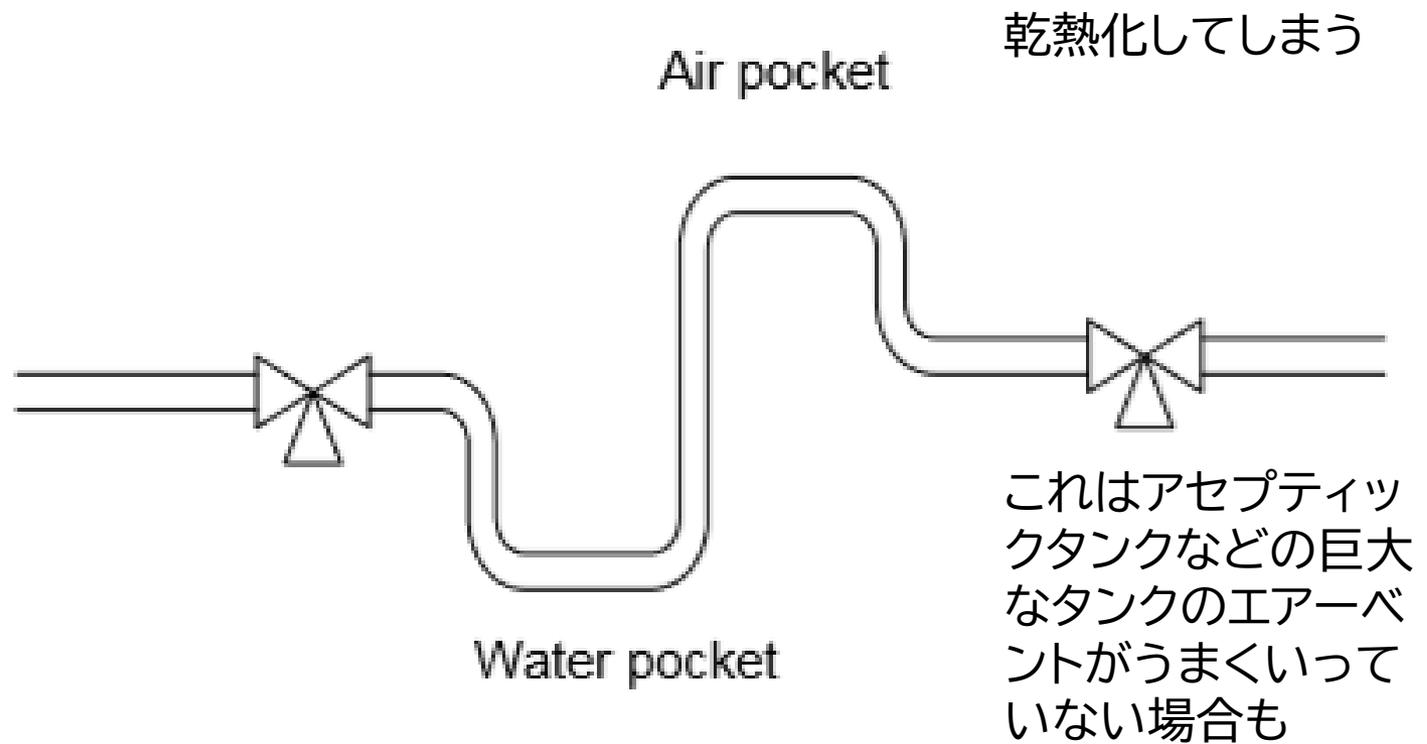
そのため 単純な「最冷点」または「空気だまり」「ドレン
だまり」あるいは「汚れの落ちにくい箇所」での 内部あ
るいは表面の温度履歴のみで妥当性確認とすることが
多い・・・しかし・・・



**VDMA-Documents
Food Processing Machinery
and Packaging Machinery**

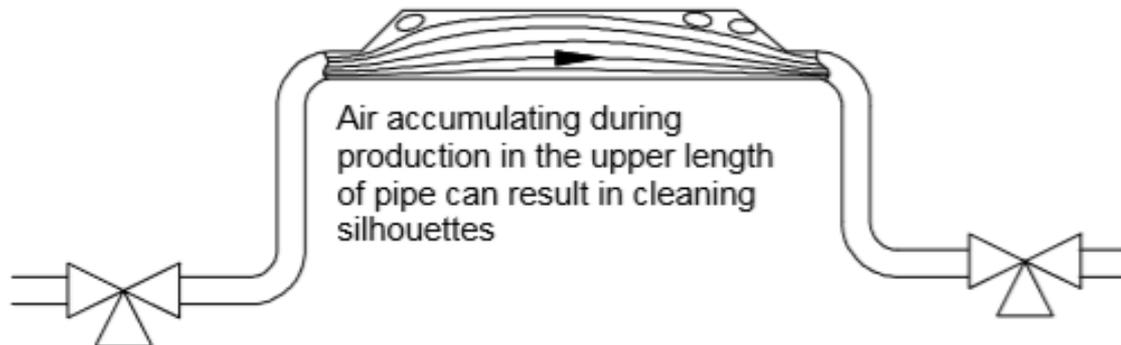
**Aseptic Production Lines:
Unsterility Risks in Product and Feed
Lines
- Planning and Installation Faults**

3.1 Case study: “Liquid and air pockets”



3.3 Case study: “Cleaning silhouette”

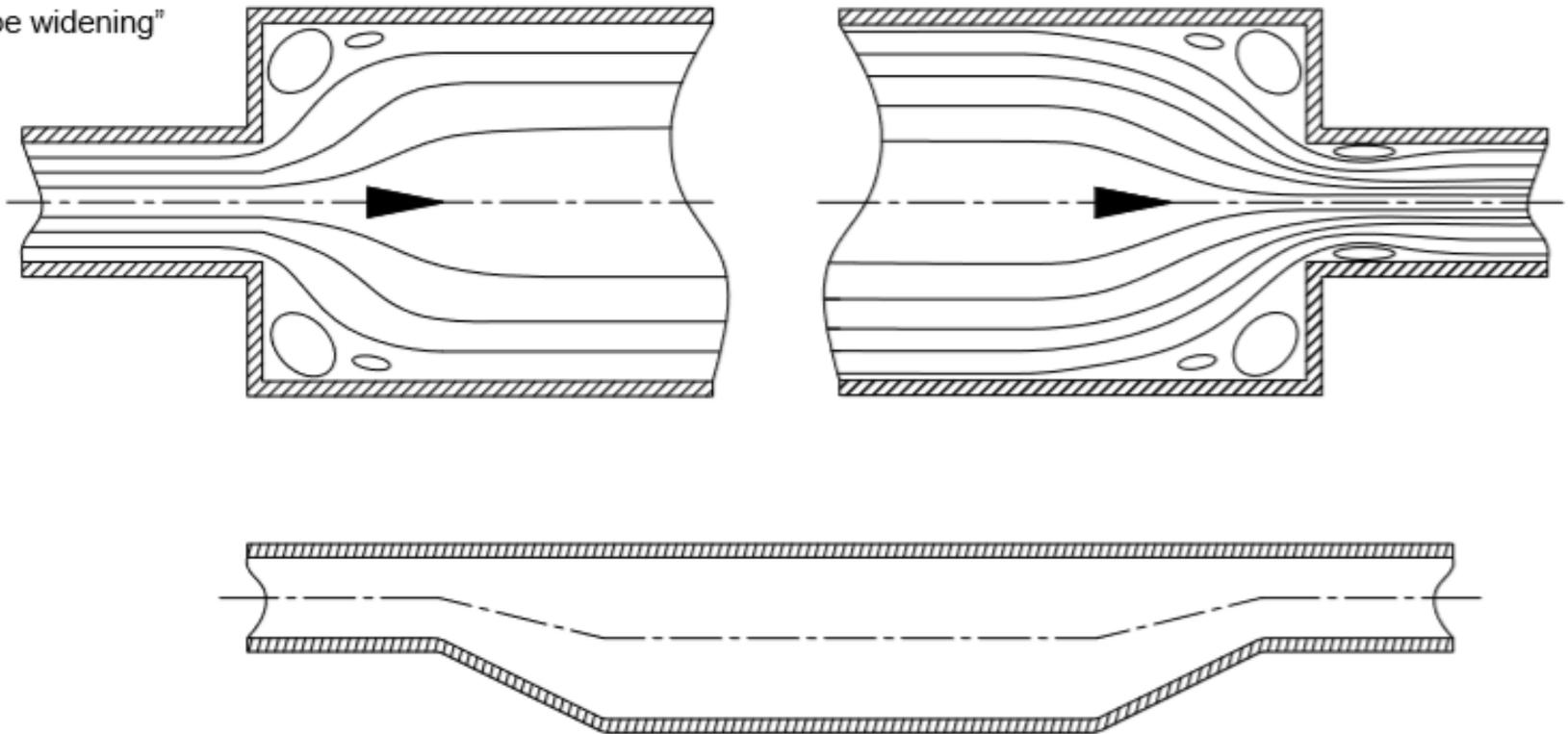
In a length of pipe of relatively large cross section which is filled at the start of production an air pocket forms during production due to outgassing from the product. This can give rise to “cleaning silhouettes” during cleaning.



3.4 Case study: “Change in pipe cross section”

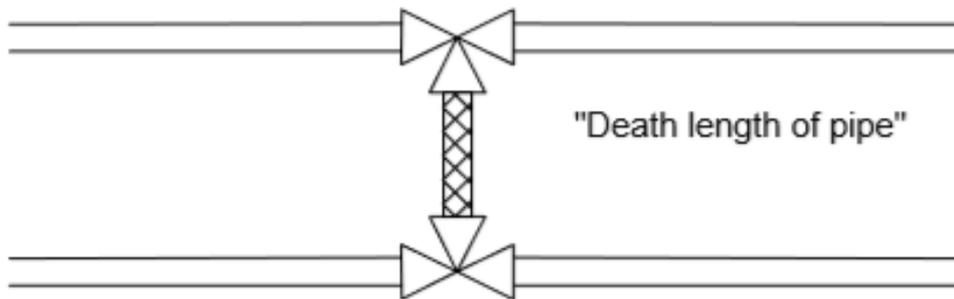
When narrowing or widening of a pipe is incorrectly carried out water pockets or air bubbles may form. There is the risk of cleaning silhouettes in zones of low turbulence.

“Pipe widening”



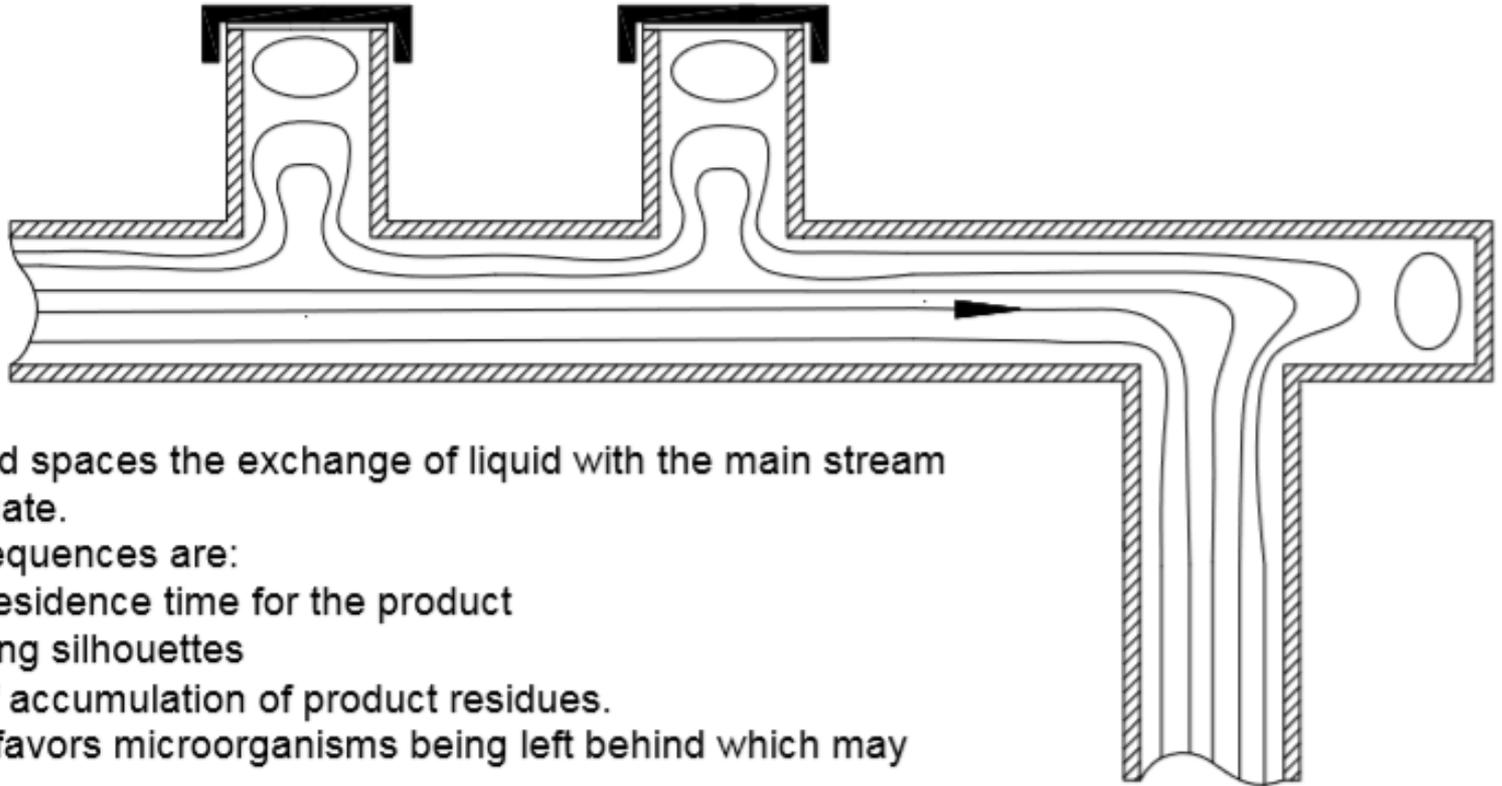
Transitions of inherently correct shape form an undrainable water pocket due to incorrect installation position.

3.5 Case study: “Dead lengths of pipe”



Lengths of product line which, for example, are brought into operation only during a cleaning phase fill up with product on starting up again under sterile conditions and this remains enclosed there for relatively long periods of time.

3.8 Case study: “Dead spaces”



Problem:

In the dead spaces the exchange of liquid with the main stream is inadequate.

The consequences are:

- long residence time for the product
- cleaning silhouettes
- risk of accumulation of product residues.

All of this favors microorganisms being left behind which may grow later.

アセプティックにおける検証

中身の滅菌、包材の滅菌、機器の滅菌 すべてがそろって初めて無菌性が達成される・・・つまり最終製品の形態でしか 総合的な検証ができないことが多い

製造開始前には 何万パックかの 液体培地充填後の温度虐待試験、または 製品が微生物汚染を反映しやすいものであれば 製品そのもの

製造開始後は 製品サンプルの温度虐待試験、定期的な培地充填と温度虐待試験、

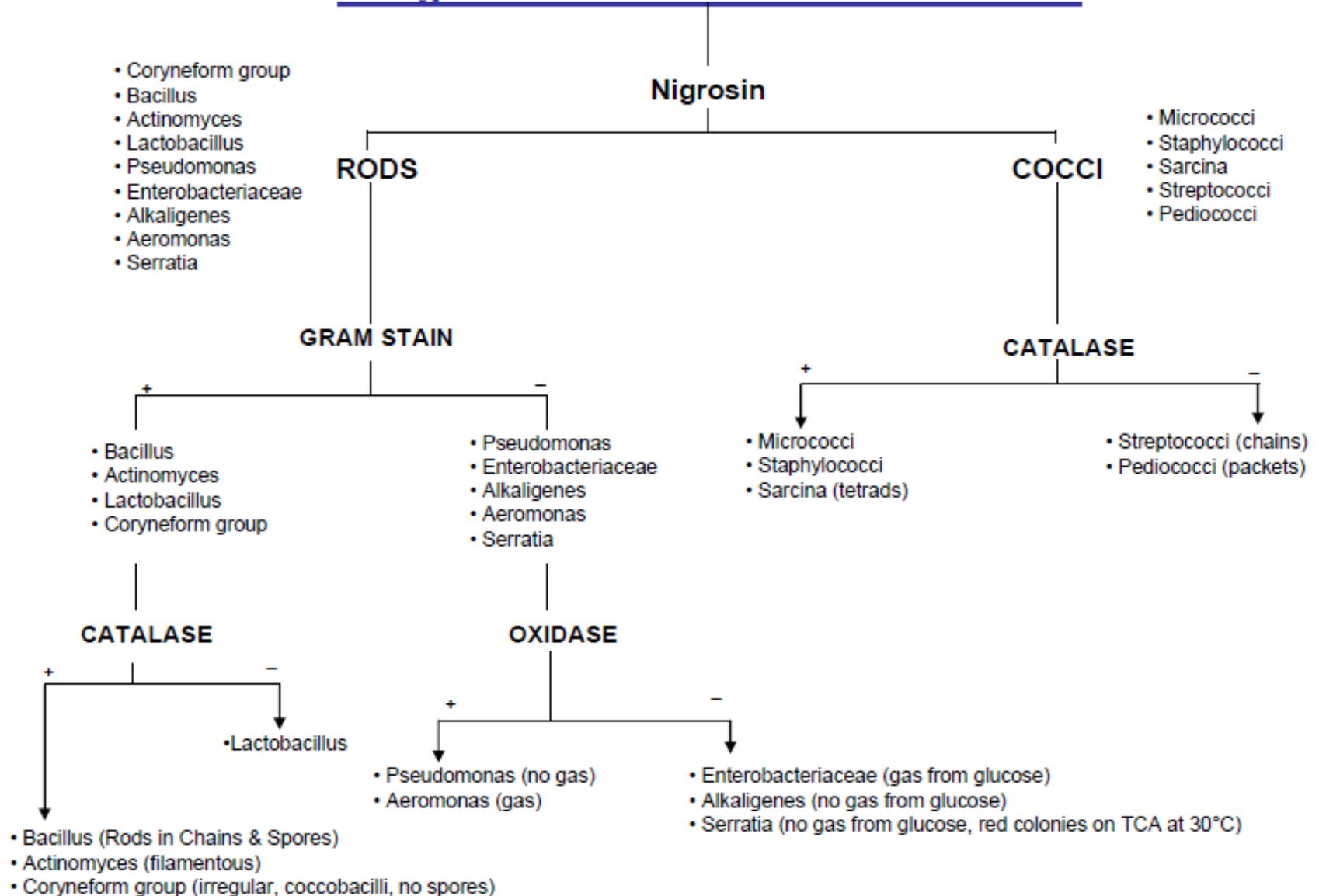
そして トラブルシューティング

アジェンダ

- 「基礎2A」の復習
- トラブルの様々な
- 極みとしてのアセプティックでのトラブルシューティング
- 理解度チェック

実戦的トラブルシューティング

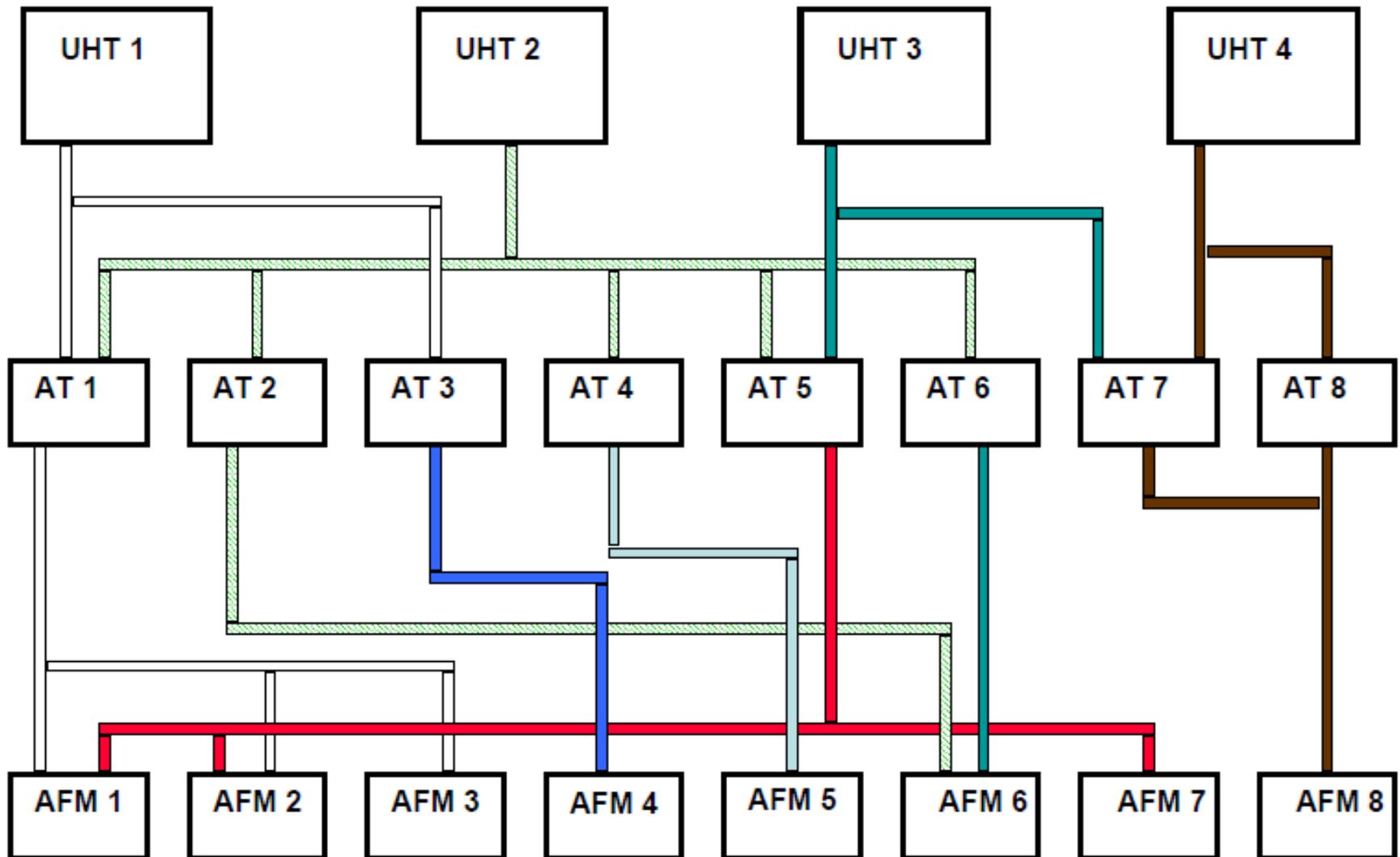
Rough Bacterial Identification Scheme



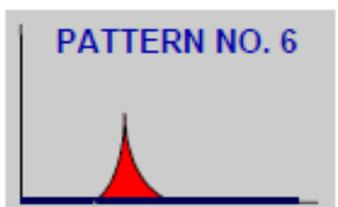
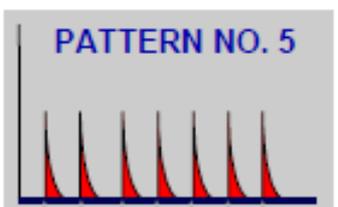
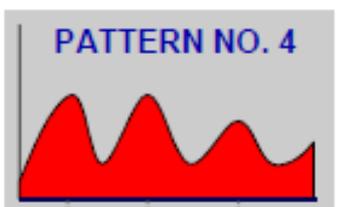
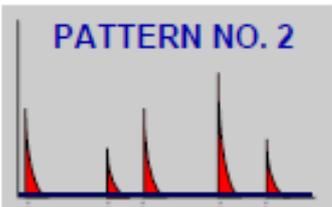
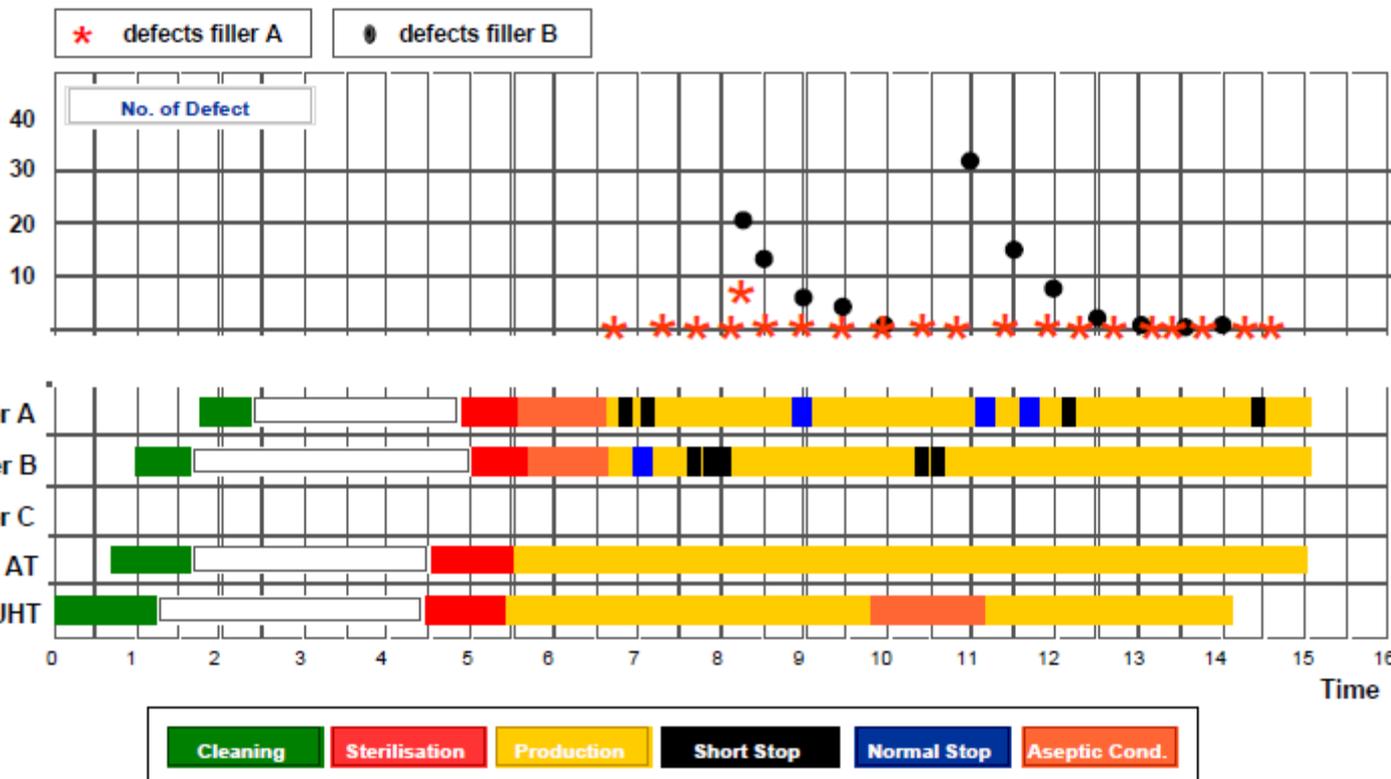
Gram	Oxidase/ Katalase	Name	Fat	Protein	Lactose	Sugars	Product colour
Neg.	Oxidase positive	Pseudomonas	Soapy/ Ransic Heat resistant enzymes	Coagulation Heat resistant enzymes	No Gas	No Gas	No effect Small pH change
Neg.	Oxidase negative	Enterobacteriaceae	-	Coagulation No heat resistant enzymes	Acid + Gas	More Acid + Gas	Change due to pH drop
Pos.	独 Katalase negative	Lactobacillus	-	Coagulation Separation due to lactic acid formation	Acid + Little Gas	Acid + Little Gas	Change due to pH drop
Pos.	Katalase negative	Streptococcus	-	Coagulation pH < 5	Acid + Gas	Acid + Gas	(-)
Pos.	Katalase positive	Sarcina Staphylococcus Micrococcus	+ + -	- - -	- - -	(+) (+) -	(-) (-) -
Pos.	Katalase positive	Bacillus	Soapy / Ransic Heat resistant enzymes	Coagulation pH ~ 5.2 – 5.8	(-)	(-)	(-)
Pos.	Katalase positive	Actinomyces	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)

Gram	Oxidase/ Katalase	Name	Smell	Source	TPC	Heat resistant	Temp. killed
Neg.	Oxidase positive	Pseudomonas	Fishy Cabbage Fruity	Water	"Greenish"	- Enzymes +	75°C
Neg.	Oxidase negative	Enterobacteriaceae	"Dry shit" Acid	Faeces Air "Everywhere"	No colour	- enzymes -	75°C
Pos.	Katalase negative	Lactobacillus	Pleasant Acid, Butter smell	Sewage Fermented products		-	85°C
Pos.	Katalase negative	Streptococcus		Sewage Fermented products		-	85°C
Pos.	Katalase positive	Sarcina Staphylococcus Micrococcus	(-) (-) (-)	Paper Human Air	Yellow/big Gold Red/yellow	- - -	70°C 70°C 100°C
Pos.	Katalase positive	Bacillus	Flat/bitter	Dirt/soil	Sporeforming	+	20'120°C 4'140°C
Pos.	Katalase positive	Actinomyces		Soil	"Powder"	-/+	100°C

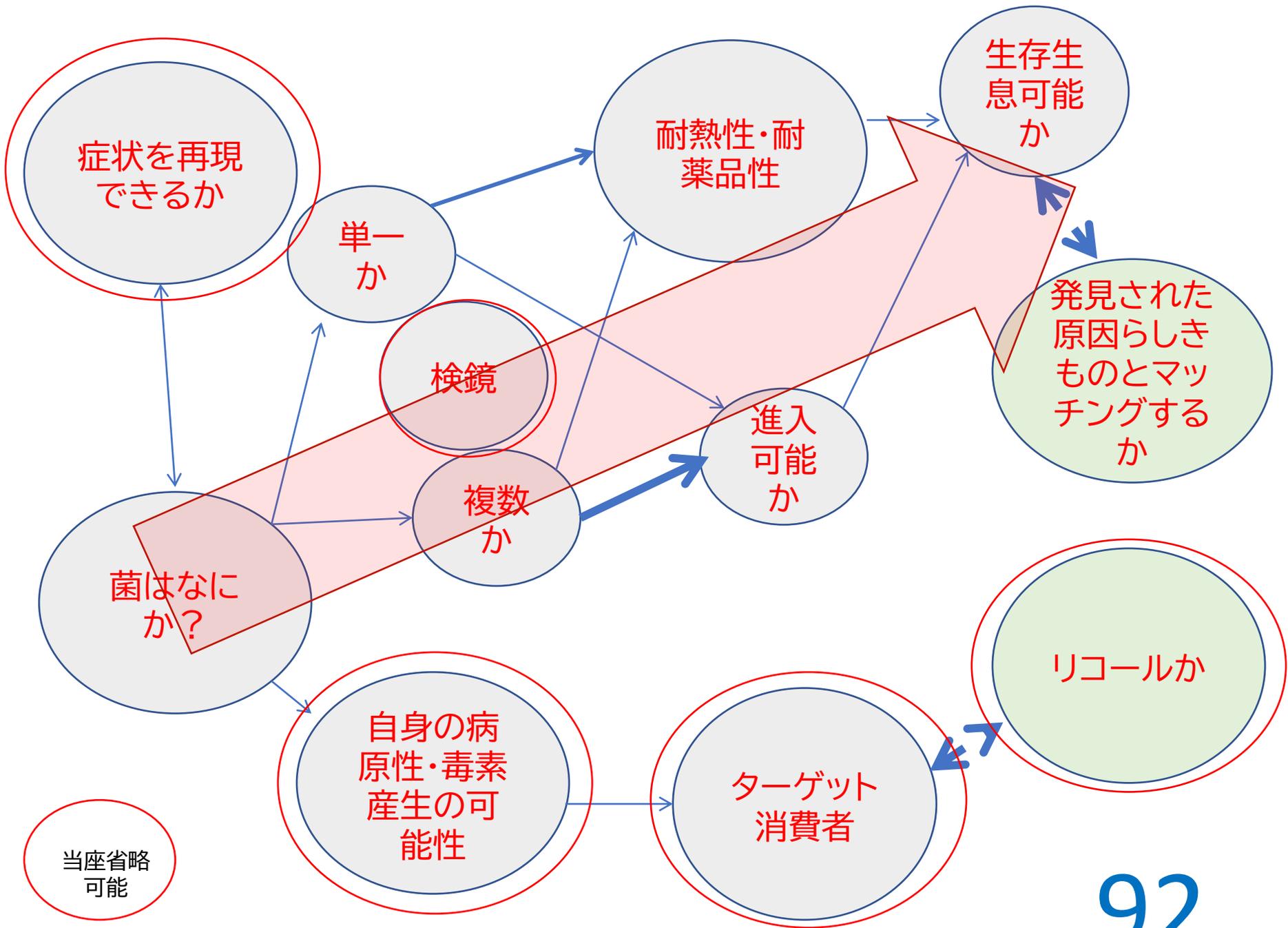
Step 1 : Overview of the installation



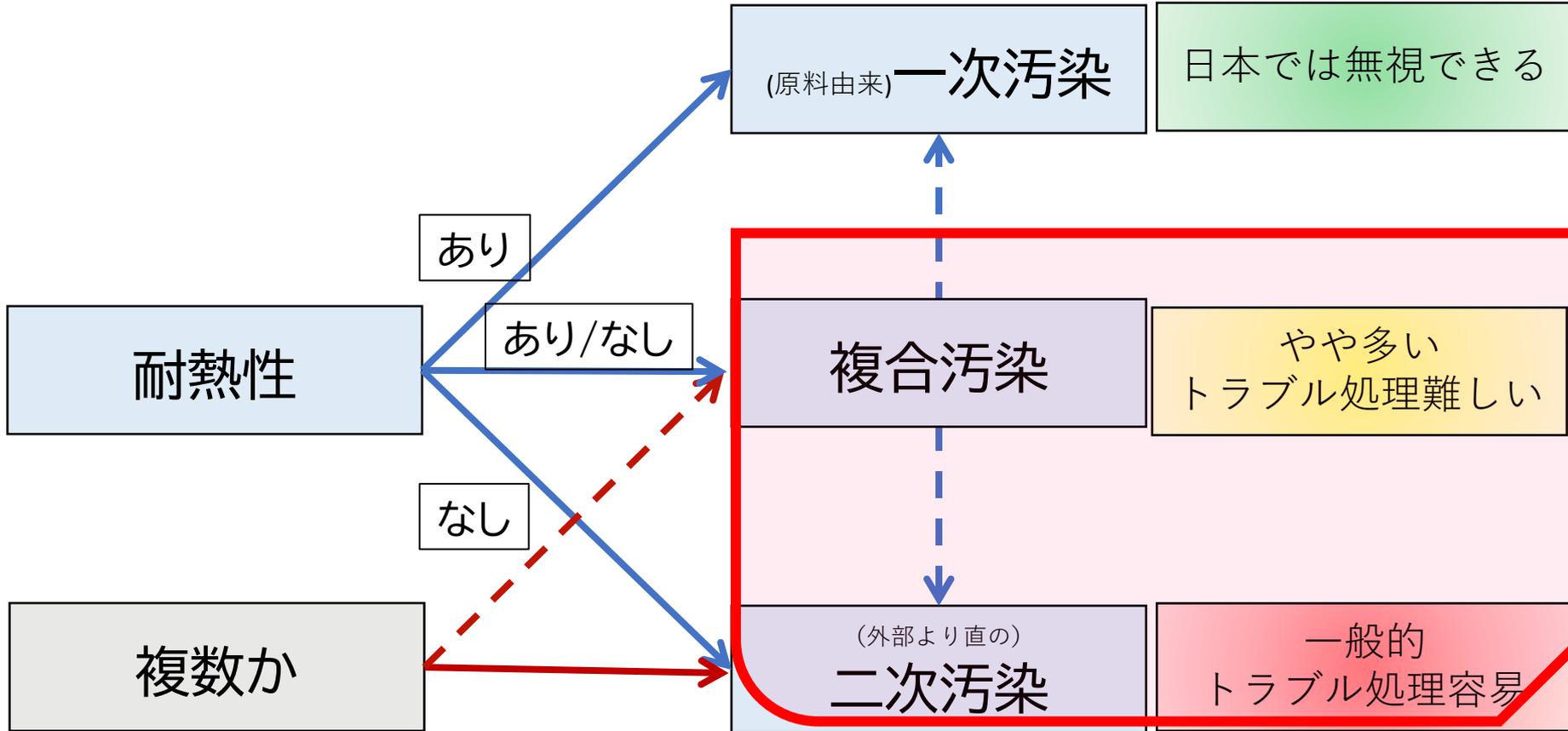
Systematic trouble shooting data collection : Pattern



トラブルシューティング
これで「ばっちり」ですよね～？



原材料中の耐熱性菌
ホールディングチューブの細り



月曜朝

課長！ 金曜日製造のXXですが 今 温蔵庫に行ってみたら
かなりのパックが膨張してます…

(あなた) ラインスタートを延期して
まず可能性のある個所を チェックするからな…

木曜朝

課長！ 月曜日製造のXXですが 今 温蔵庫に行ってみたら
かなりのパックが膨張してます…

(あなた)ええっ！ でも月曜から すでに YYもZZも製造しているし
その間には CIPもSIPも 機器分解点検もはいつているし…

兆候をつかむのは早くても 2-3日のち

2008年 東京秋葉原



アセプティックでは
通常現行犯逮捕はあり得ない

加藤容疑者

「通行人を持っていたナイフで
次々と刺しました」

証拠物件が残されていないこと
あるいは 証拠物件が すり替えられていることを
覚悟してかかる(CIP、ほかの製品製造、分解点検)

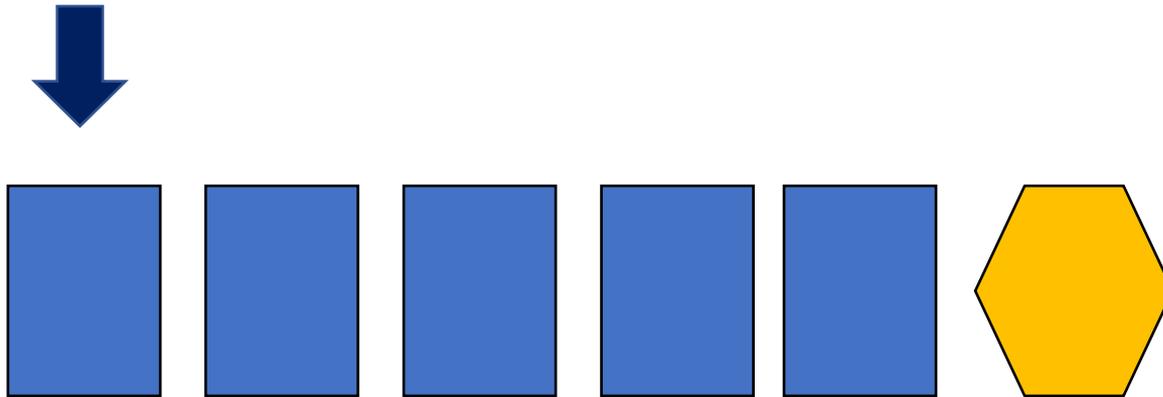
微生物分析はどれだけ信頼できるか？



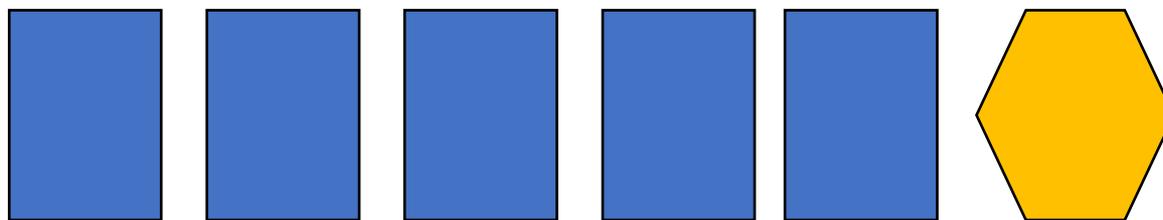
- **力量**
- ラボアクシデント
- 測定誤差・判定誤差
- サンプル・データ取り違い
- バイアス
- 圧力(試験室内部)

- 不適切なサンプルを渡す
- バイアス
- 圧力(工場として そんな結果はききたくない)

(NZでの実例) pHチェックの後で微生物検査



(MYでの実例) クリーンベンチの中での交差



微生物分析はどれだけ信頼できるか？

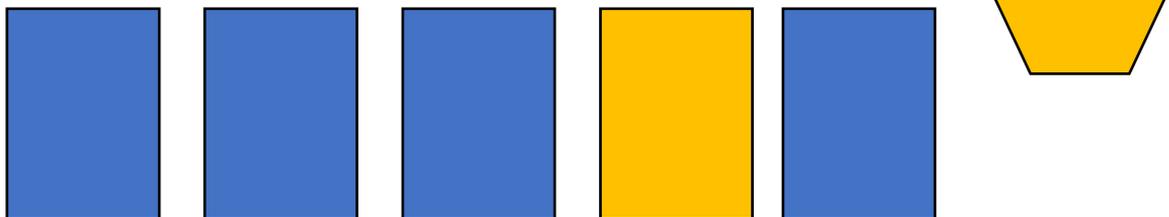


- 力量
- ラボアクシデント
- 測定誤差・判定誤差
- サンプル・データ取り違え
- バイアス
- 圧力(試験室内部)

- 不適当なサンプルを渡す
- バイアス
- 圧力(工場として そんな結果はききたくない)

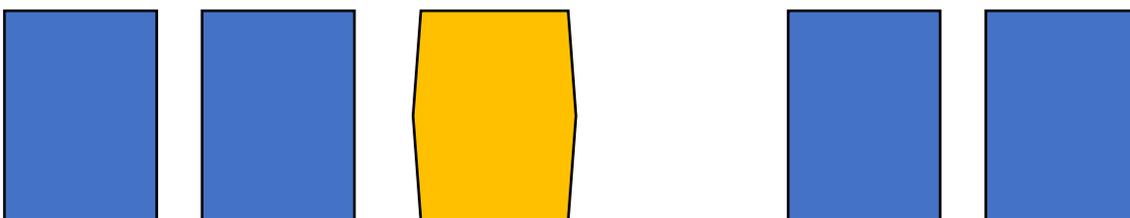
例1

30°C



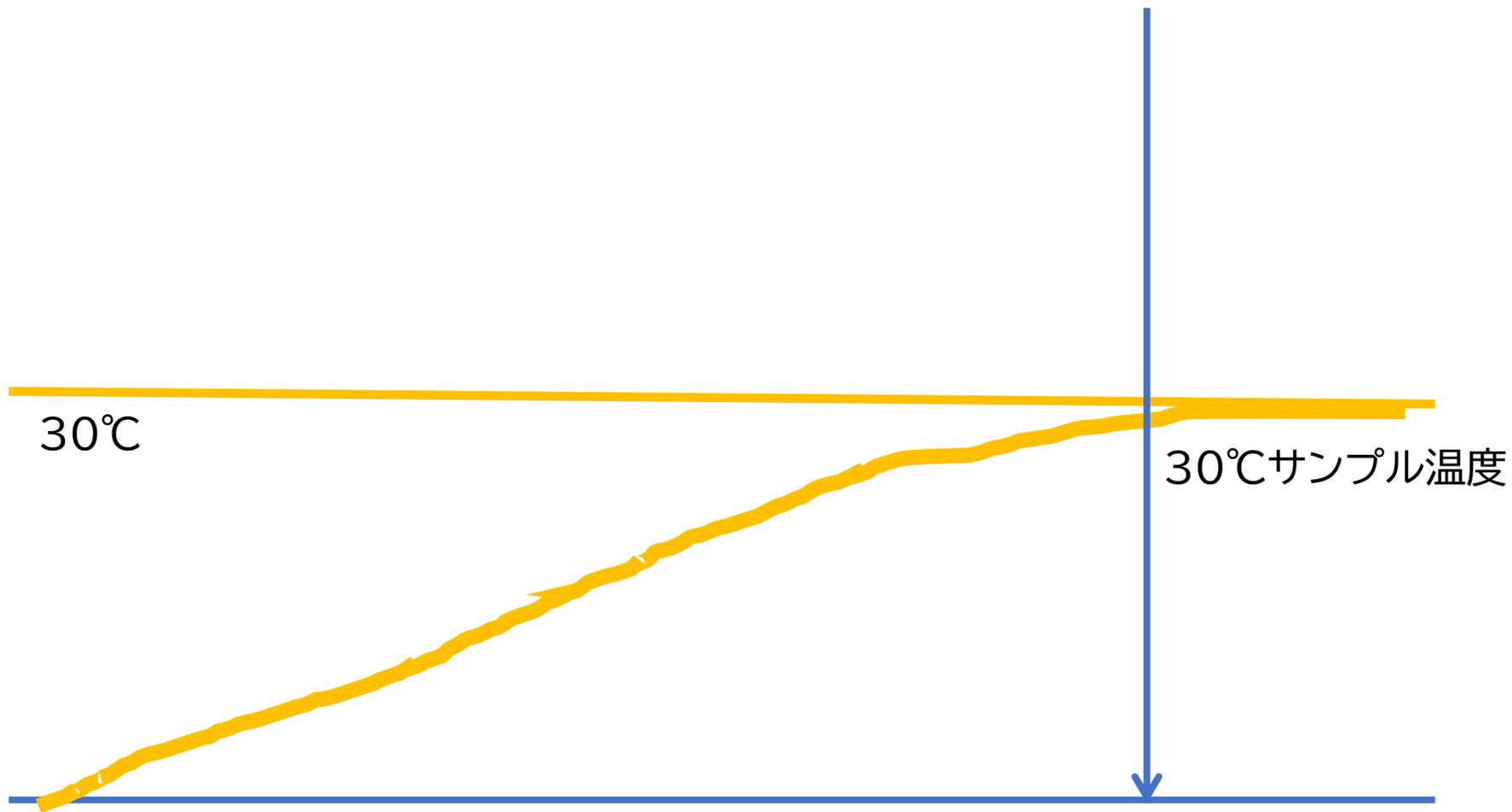
例2

30°C



55°C

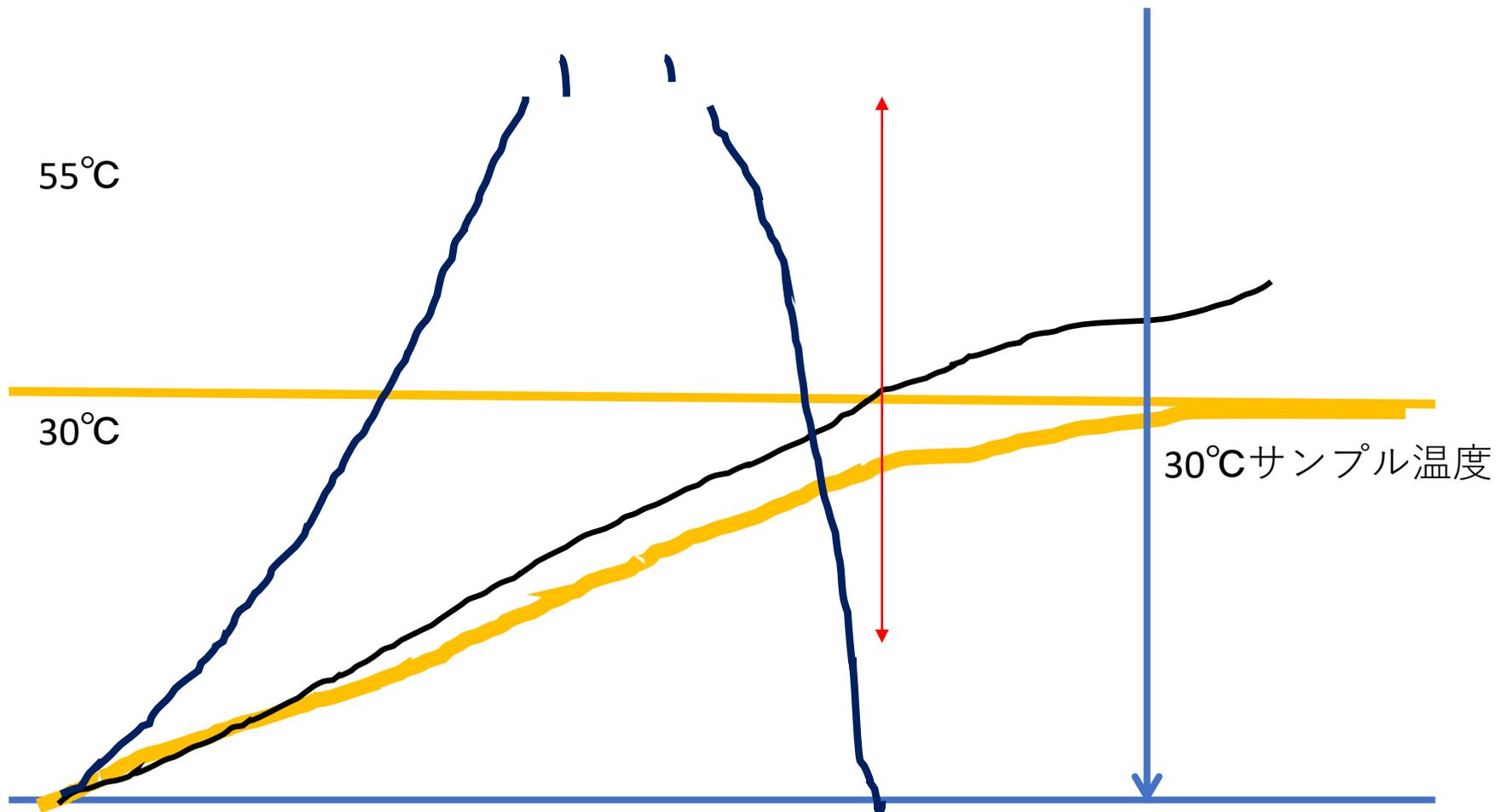
102



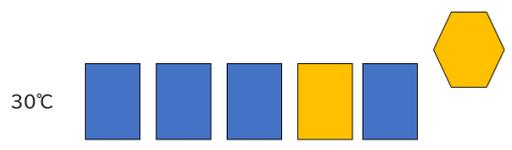
30°C

30°Cサンプル温度

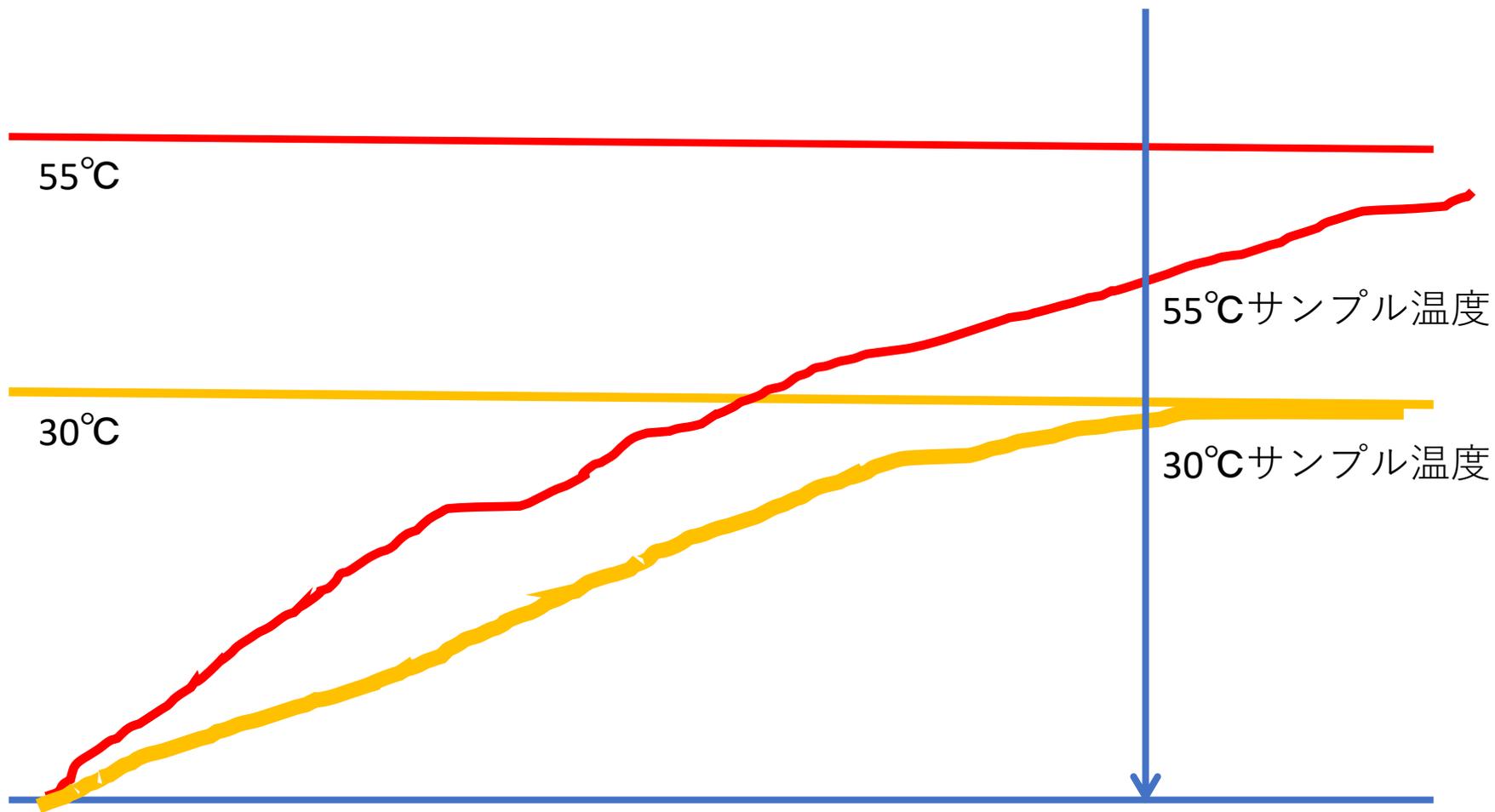
103



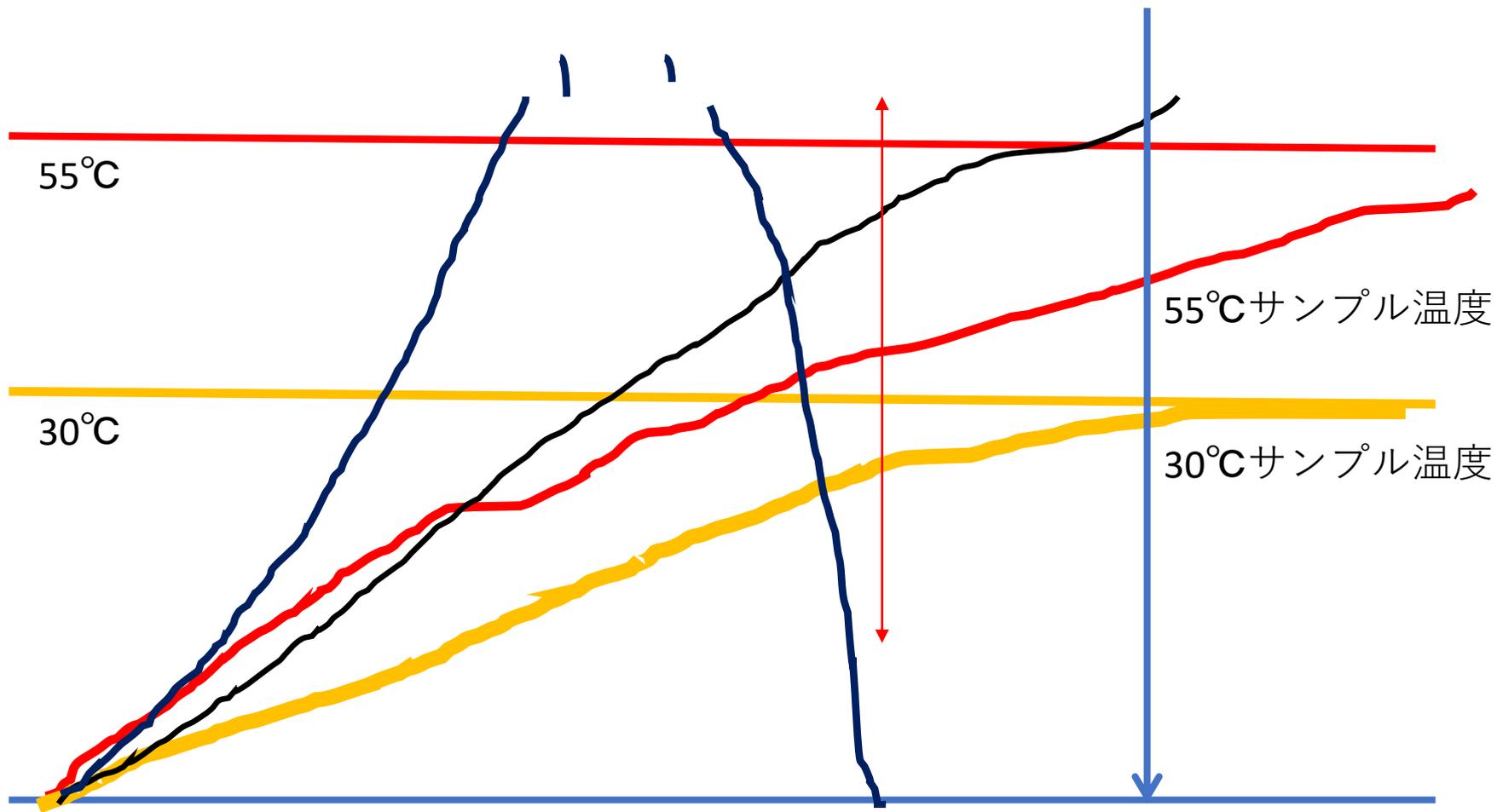
例1



104

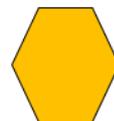
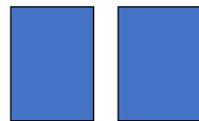
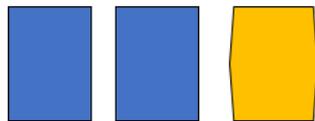


105



例2

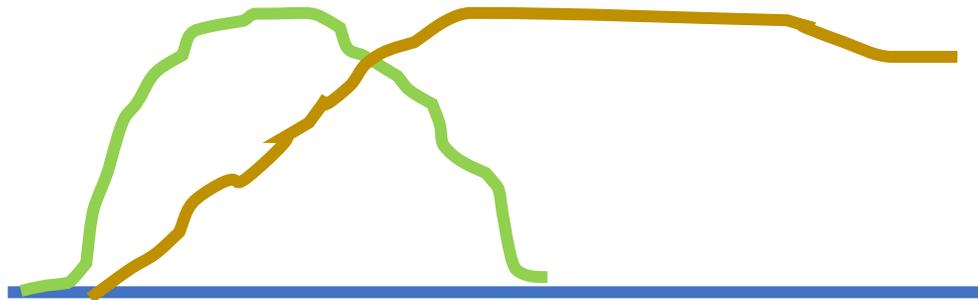
30°C



55°C

106

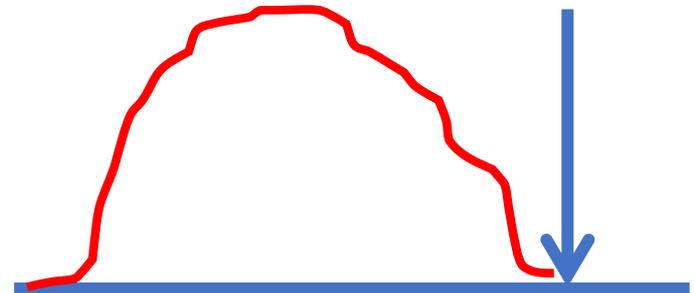
世代交代 = 菌相変化



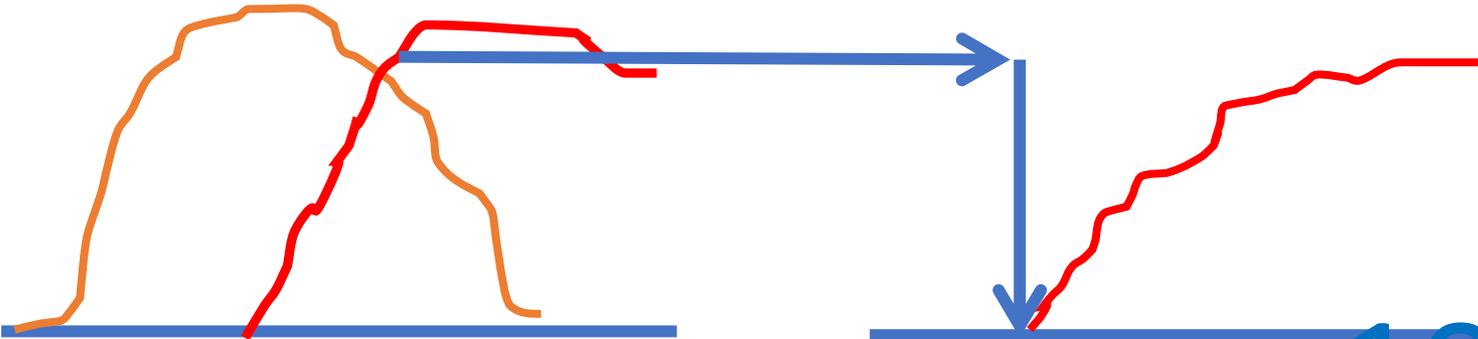
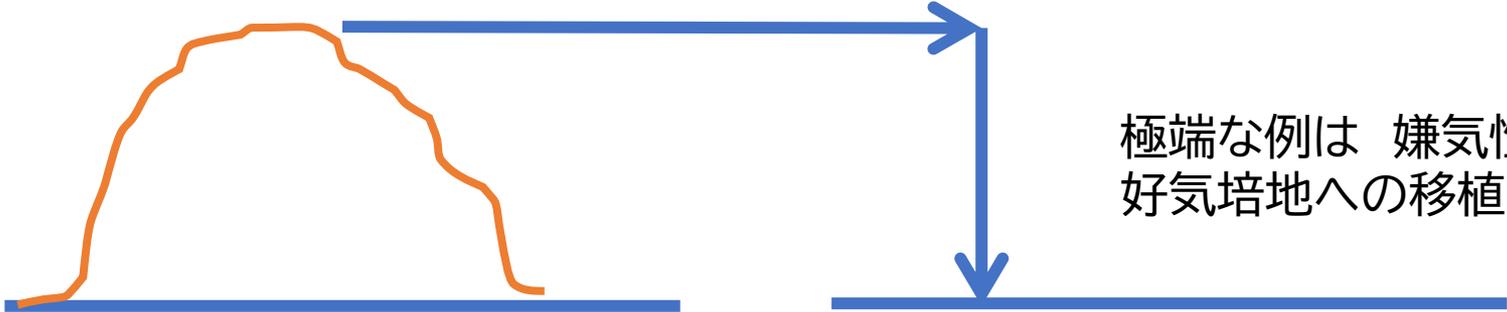
死滅・自己消化・自己溶解

微生物の生育過程については、数多くの研究がなされ、体系的な理解がなされつつある。これに反し、微生物の自己消化の現象は古くより知られているが、その機構についてはまだ良く知られていない。一方、各種の醸造に使用される微生物の菌体は、醸造物の熟成の過程において自己消化その他によって分解され、溶出した菌体成分が醸造物の味に大きな役割を果たすと考えられている。したがって、自己消化の研究は、基礎的にも、また応用の面でも必要なものである。

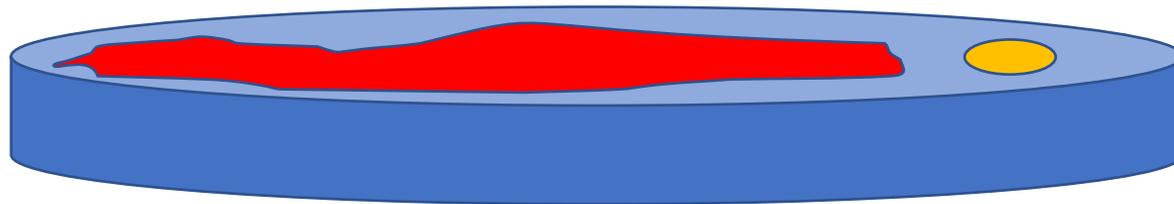
微生物は生育に好適な環境におくと、どんどん増殖を続けるが、環境が悪くなると増殖が止まり、菌体を構成する蛋白質、核酸、糖類などが低分子化して菌体外に溶出してくるのが見られる。そこで「生育の止まった菌体の構成成分が自菌の酵素によって分解され、菌体外に放出される現象」を自己消化とよぶことにする。なお細菌では、抗生物質の作用または必須アミノ酸の欠乏によって、細胞膜の合成が阻害されて unbalanced growth がおこり、細胞の burst がおこることがあるが⁽¹⁾、このような例は自己消化には含まない。



培地・培養法不適合



強い(適合)菌の繁殖が優勢



微生物検査は重要な情報源

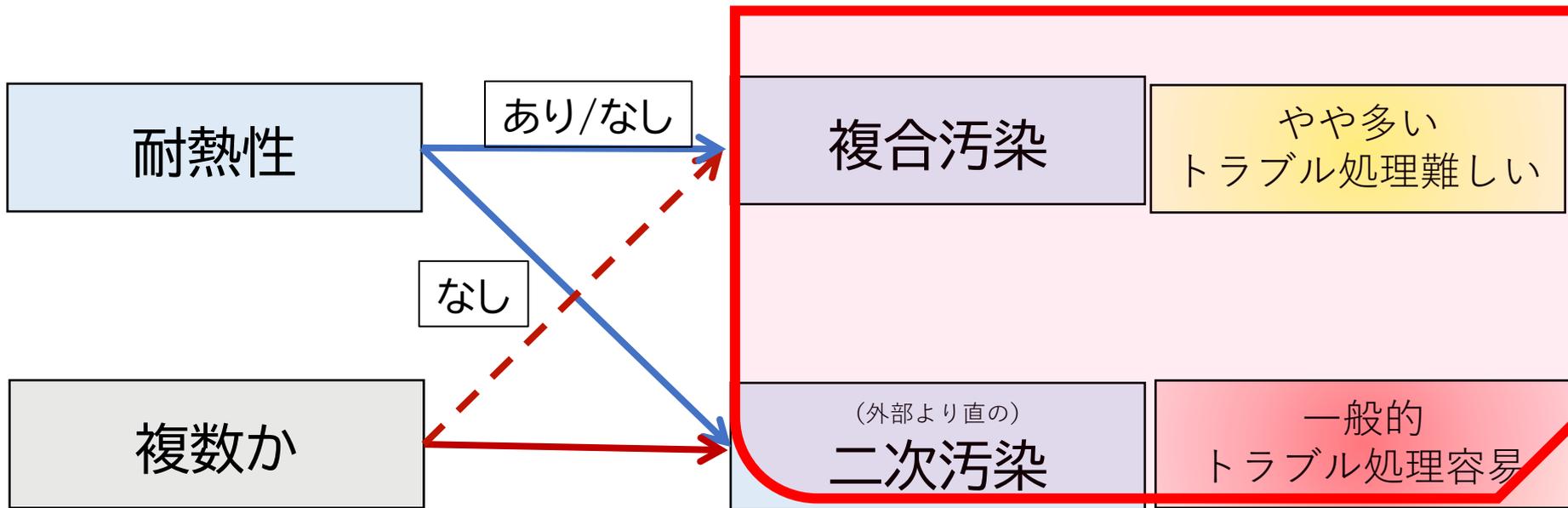
- しかし そこでは 大きな「間違い」も 起きやすい
- 微生物担当も「人間」である以上 そこにはヒューマンエラーも含まれうる
- 検査自体にも誤差
- 適切なサンプルであったか（渡したか 採ったか）に不安要因
- 適切なサンプルであったとしても 実際の原因菌をとらえられるか不安
- 同時に 複数の問題が起きていた可能性すらある



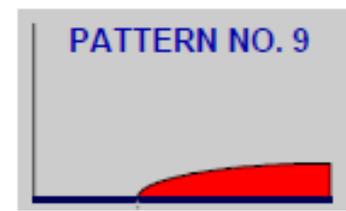
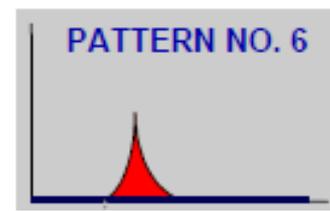
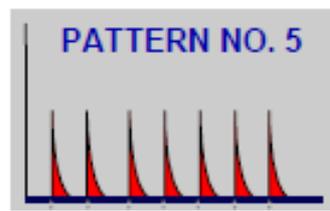
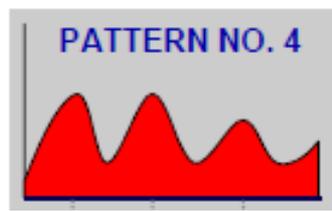
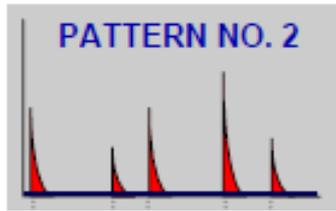
残された証拠から(科学的な知識を総動員し)
客観的に原因を読み取る能力

微生物データ

- ちゃんとサンプルが採れたか・渡されたか
- 微生物担当者の「力量」も考慮
- 単数の検査か(判断は慎重に) 複数の検査か
- ほかから得られた状況証拠・状況判断と合致するか
- 合致しなくても かならずデータとして残す。
なぜなら現在信頼している状況証拠や それを
基にした判断が間違っている可能性もある



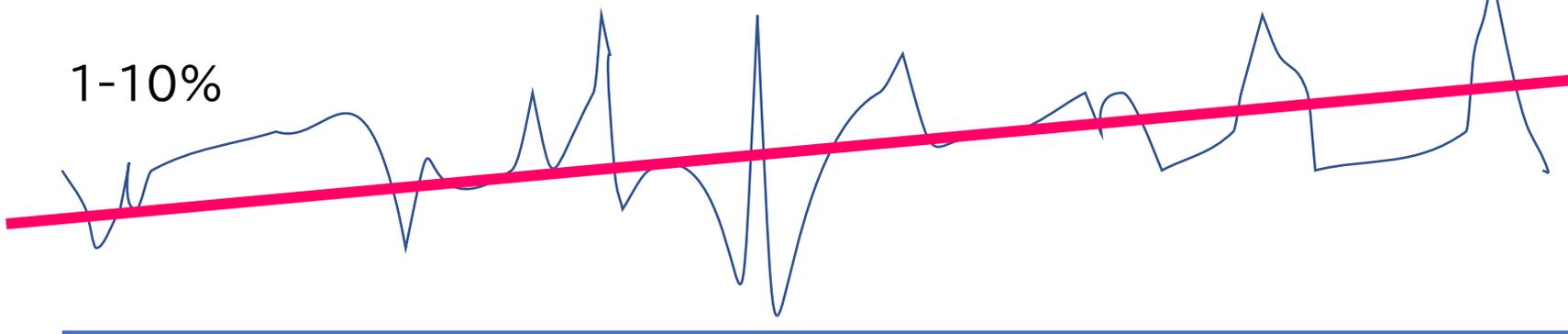
どこまで こんな きれいなパターン
が出現しうるのか？



まず 第一に 高濃度汚染でなければ
このような症状はでてこない

つまり 日本では パターンの出現は期待しにくい

1-10%



0.1-1.0%



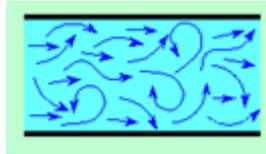
PPM



さらに パターンを崩すもの

乱流 層流

乱流



層流



乱流



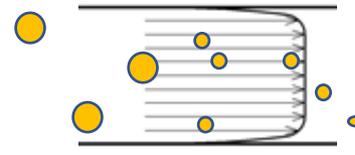
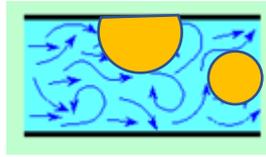
層流



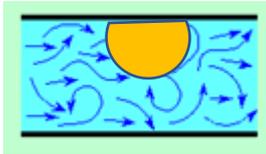
川上

層流は言わずもがな 乱流の中でも

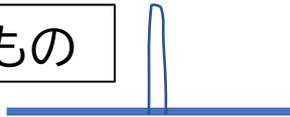
分散しやすいもの



分散しにくいもの



分散しやすいもの

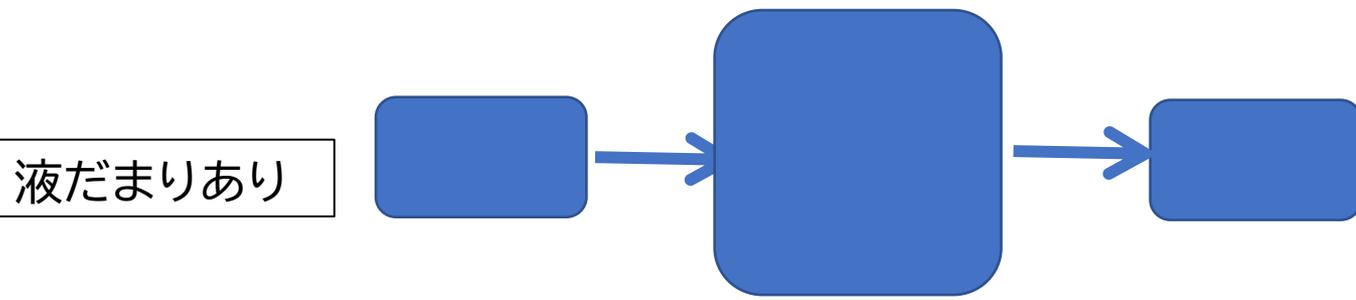


分散しにくいもの

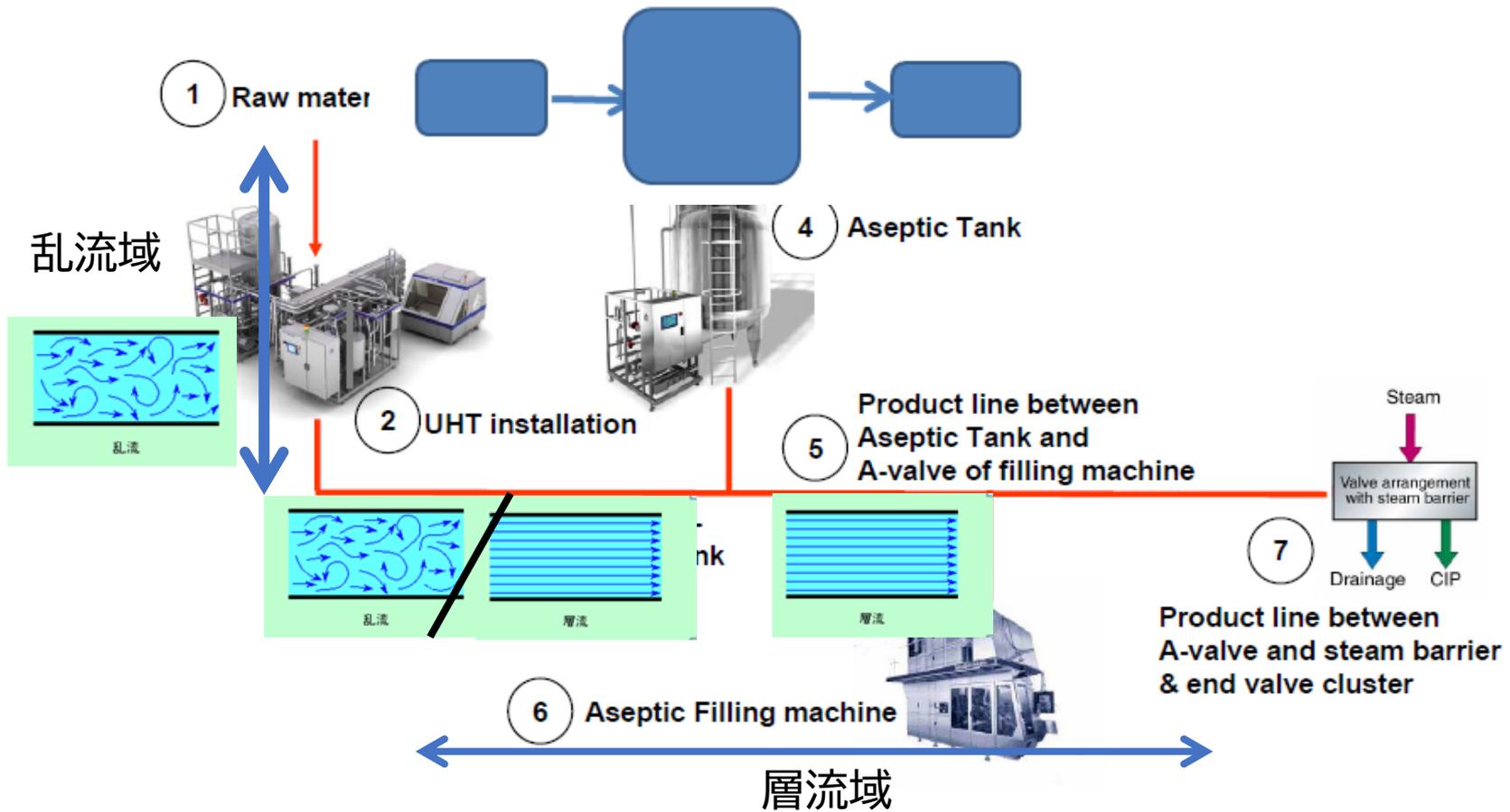


川上

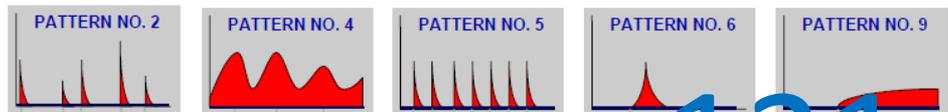
途中で液だまり:アセプティックタンク、ホモ



川上



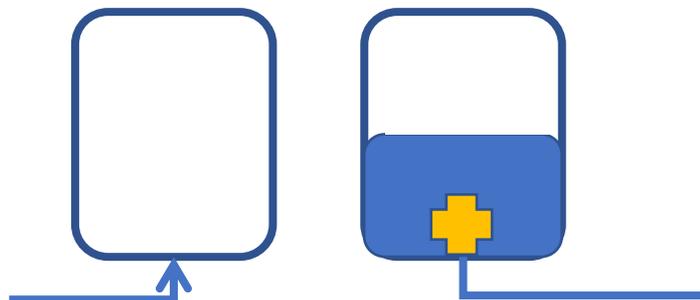
すくなくとも アセプティックタンク以降で
かなり 高濃度の汚染でない
下のような きれいなパターンは起きづらい



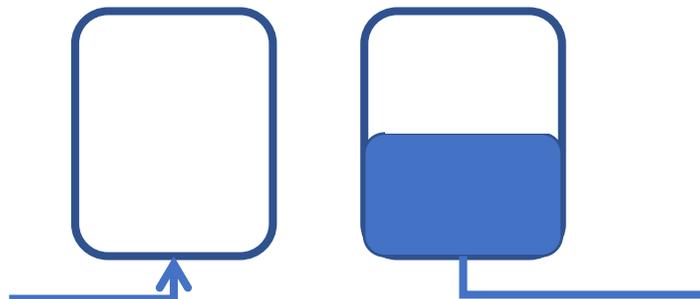
Aseptic Tank



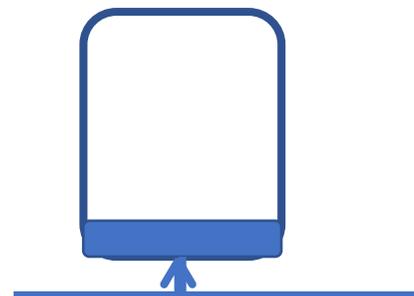
先入れ あと取出し、攪拌あり



先入れ あと取出し、攪拌なし



先入れ 途中取出し





攪拌ない または
攪拌十分でない
場合には・・・
浮上(または沈降)も
起きうる

泡沫分離とは

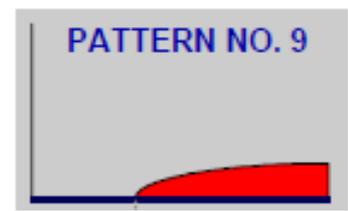
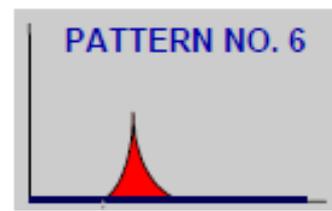
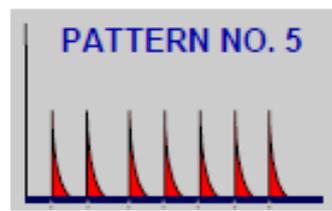
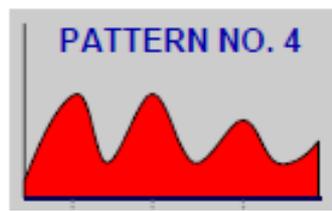
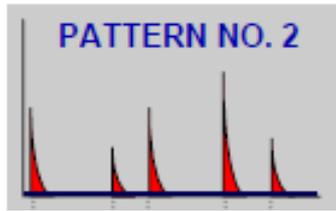
液体中より物質を除去する方法として、浮上分離、沈殿、ろ過、吸着、化学反応、生物処理等、様々な方法があります。沈殿は水よりも比重の軽い物質や溶解性物質は除去できないし、吸着は除去量に限界があるため高濃度物質の除去には不向きである等、除去対象物質によって処理方法が変わってきます。したがって、除去対象物質に応じて、適切な処理方法を選択する事が重要になってきます。

泡沫分離とは、様々な物質が気泡の気液界面に吸着する性質を利用し、気泡をフィルターとして液体中より目的物質を分離・除去する浮上分離の一種です。気泡に物質を吸着させるため、粗大粒子や重い粒子の処理には不向きです。また、水面に発生する安定泡沫を取り除く事で水中より目的物質を分離するため、発泡性のない液体には用いる事ができません。しかし、コロイド粒子等の微粒子を目詰まりすることなく短時間に除去することができるため、飼育海水中の水質汚濁原因物質でもある体表粘液等タンパク質の除去には、最も適した方法であると考えられます。また、泡沫分離は気泡に物質が吸着・濃縮する性質を利用しているため、一種の濃縮装置とも考えられるため、高濃度よりも中・低濃度物質の除去に向いています。

この泡沫分離講座では、泡沫分離の原理、特長、応用技術、最も利用されている魚介類飼育海水への適用など、泡沫分離に関する事柄を記述していく予定です。



もしこんなパターンがきれいにでたなら



神に 仏に 感謝！！！！

空気と水

●表1 NASA 規格⁵⁾

BCR	粒子		生物粒子	
級別	粒径 (μ)	累積粒子 (個/L)	浮遊量 (個/L)	沈降量 (個/m ² ・週)
無菌チャンパー クラス100	≥ 0.5	≤ 3.5	0.0035	12,900
クラス10000	≥ 0.5 ≥ 5.0	≤ 350 ≤ 23	<u>0.0176</u>	64,600
クラス100000 倉庫など	≥ 0.5 ≥ 5.0	$\leq 3,500$ ≤ 25	0.0884	323,000

[環境条件] ● 圧力: 1.3mmAq以上 ● 温度: 指定値 ● 湿度: 40~45% ● 気流: 層流方式0.45m/s、乱流方式 ≥ 20 回/時 ● 照度: 1080~1620LUX

それに対して

水道水は 0-100個/ml(日本では 通常ゼロのため 0.1個/L
⇒ つまり 100個/Lとして計算)

熱交換用 冷却水などは 10^5-10^8 個/L

汚染水は $>10^8$ 個/L

では・・・1Lの空気または水が
無菌エリアに侵入したら？

充填室内

無菌エア-

外気

水道水

冷却水

汚染水



弱い

汚染の力

強い

128

汚染水吸い込みの可能性のひとつ

4-1 基本事項

トラップ出口側配管では以下の点に注意する。

- ①トラップ出口にかかる背圧がトラップ入口圧力よりも常に低い状態にする。
- ②トラップ出口を立上げ配管にする場合は、ドレンの逆流を防止するため逆止弁を設置する。
- ③ドレン回収配管は、ドレンと、高温ドレンが低圧へ放出された際に生じるフラッシュ蒸気が混在した2相流となるため、フラッシュ蒸気の体積を考慮した配管径にする。
- ④ドレンをピットなどへ排水する場合、出口配管を水につけない(図8)。

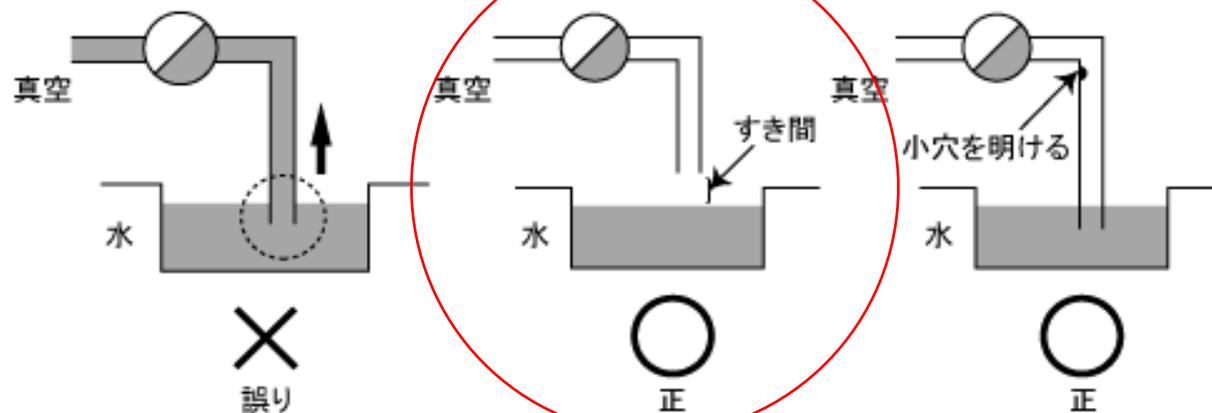


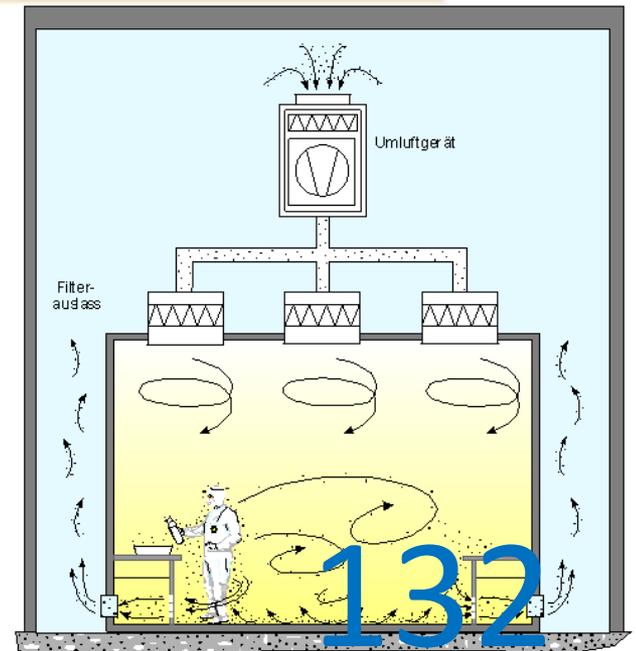
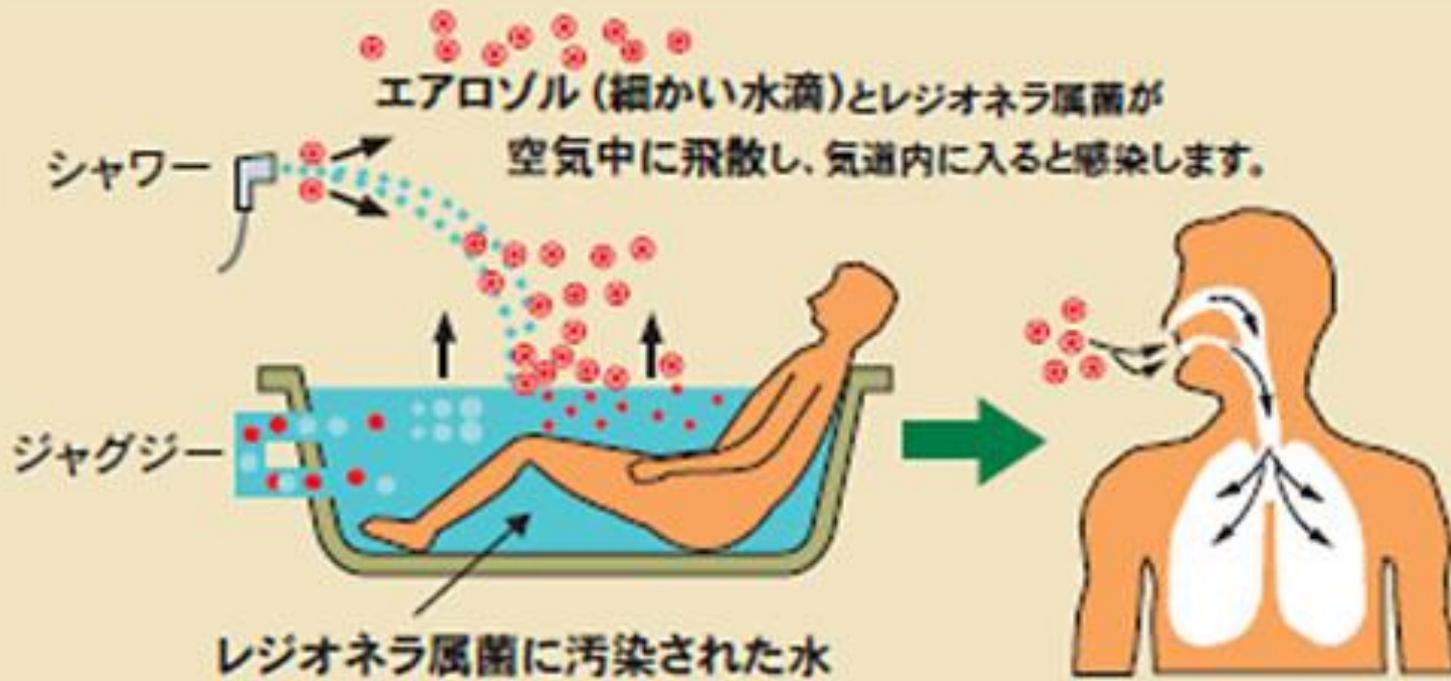
図8 ピットなどへのドレン排出



实例：O社

130

じゃあ「空気」だったら「安全」か？



「埃も怖い」通常アセプティックでは エアロゾル

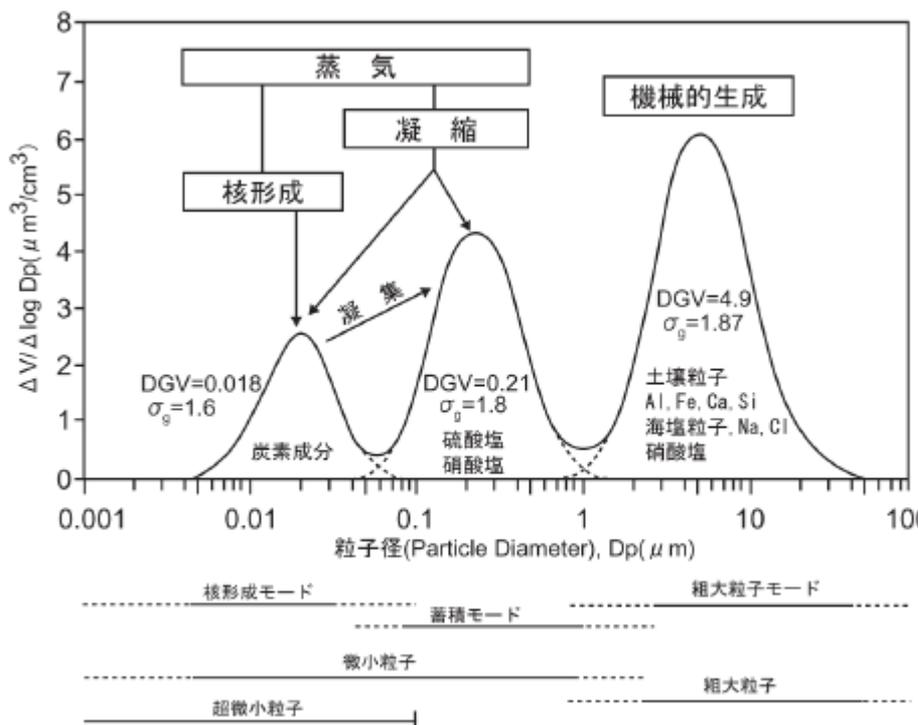


図 1.1.1 粒子の粒径分布及び代表的な組成例

human and environment

3-4. エアロゾルの濃度

- 環境汚染 - 松田 八東

最も一般に計測されるエアロゾルの特性であり、健康上、また生活環境への影響の面からも、最も重要な特性は**質量濃度**である。質量濃度は、エアロゾルの単位容積中の粒子状物質の質量を表しており、常用単位は g/m^3 、 mg/m^3 、 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ である。質量濃度はエアロゾルの密度に相当するが、密度という表現は、粒子密度と混乱するおそれがあるので使われていない。よく使われるもう一つの濃度尺度として、**個数濃度**がある。個数濃度はエアロゾルの単位体積あたりの粒子の個数を表わしている。常用単位は $\text{個}/\text{cm}^3$ である。アメリカではそのほかに、 $\text{個}/\text{ft}^3$ と mppcf (million particles per cubic foot: 10^6 個/ ft^3)も用いられる。

気体状汚染物質と異なり、エアロゾルに対しては、容積ppmまたは質量ppmは使われない。これは、エアロゾルが二相系になっていること、およびこの方法で表現すると、エアロゾル濃度が非常に小さな数値になってしまうためである。しかしながら、表1.2に示したように、いくつかの標準濃度をこれらの方法で計算しておくことは、有効である。例えば、煙突の煙は、容積基準では99.999%清浄な空気といえることができる。

表1.2 質量濃度をppmで表わした例(単位密度の球と仮定)

	質量濃度 質量/体積 (mg/m^3)	容積 ppm 体積/体積 (ppm)	質量 ppm 質量/質量 (ppm)
米国環境空気清浄基準	0.08	8×10^{-5}	0.07
有害ガスの閾値	10	0.01	8
未処理の煙突排出物 (典型的なもの)	10000	10	8000

早川 一也監訳、ウィリアム G.ハインズ著
「エアロゾルテクノロジー」 井上書院(1985)

汚染水 (その細菌レベル > 100000個/L) を 空中に散布

直径 10μ のエアロゾルとして

1Lの空気の中に10000個の粒子が存在したら？

球の体積の公式

$$V = \frac{4}{3} \pi r^3$$

(Vは球の体積。πは円周率。rは球の半径)

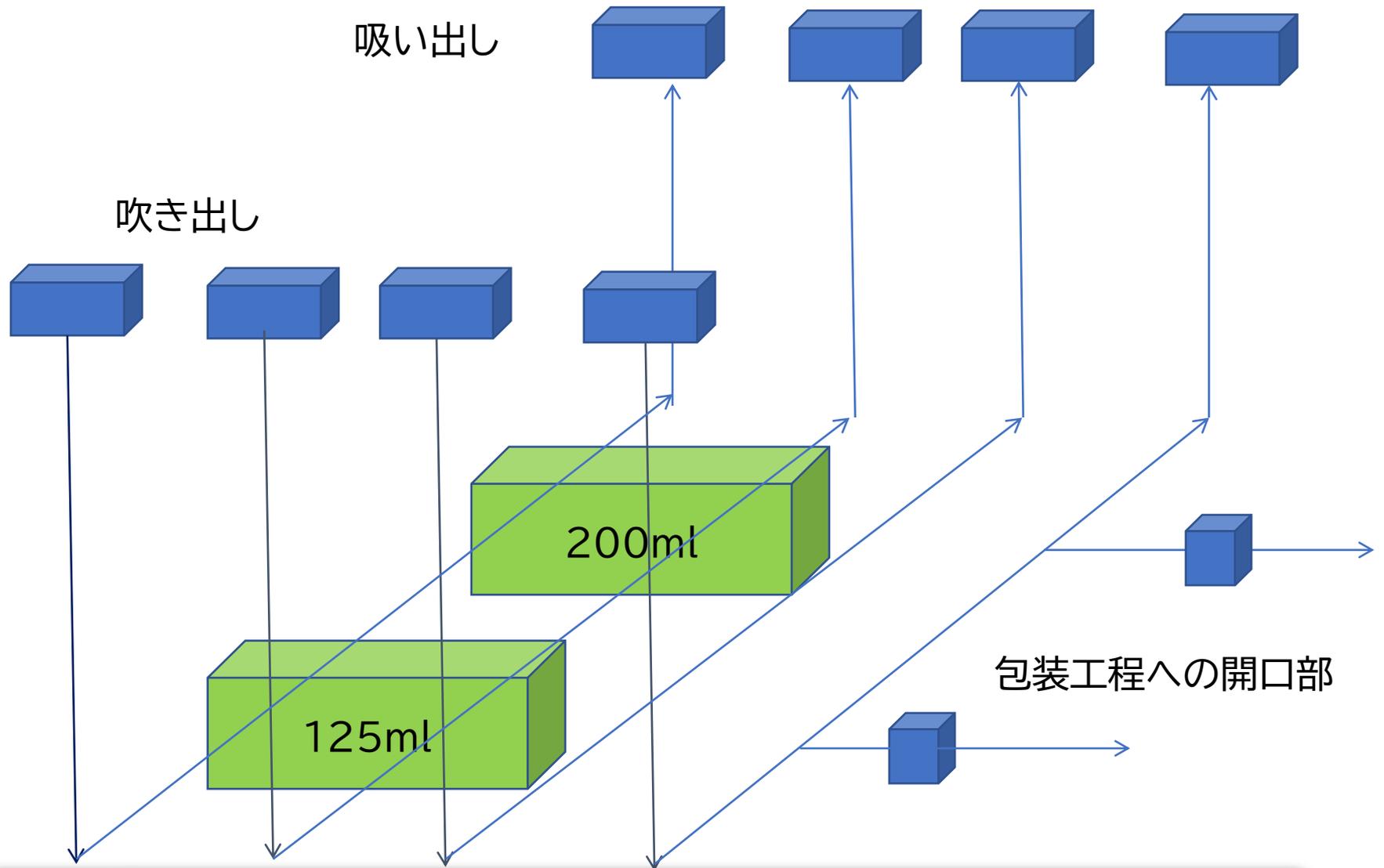




充填機後方から前へ掃き清めるような 空気の流れ

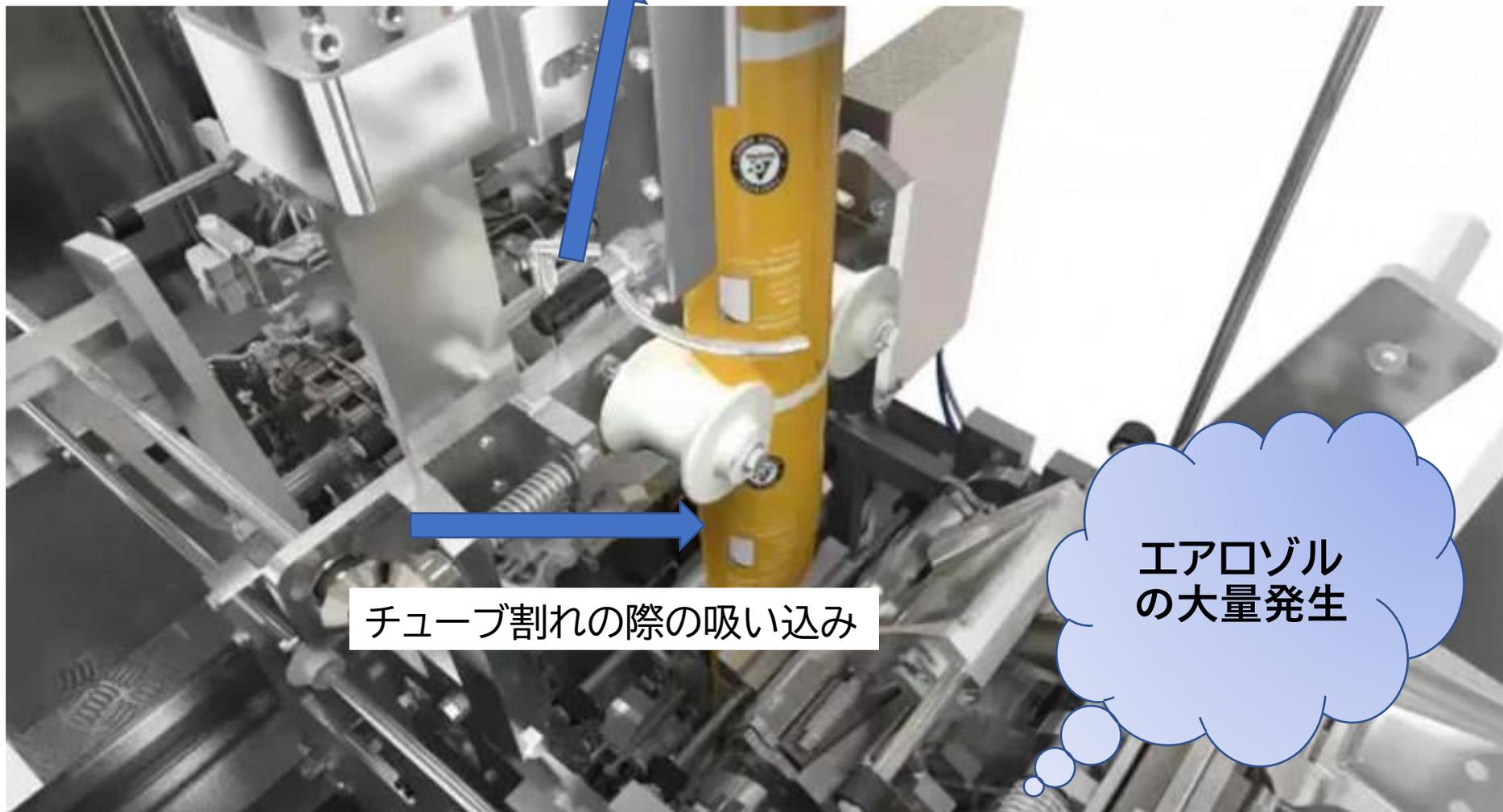


エアロゾル
の大量発生



N社では理想的とは言い難い空気の流れを作ってしまった

チャンバー下部からの吸い込み（エアバランス崩れることが原因となること多い）



チューブ割れの際の吸い込み

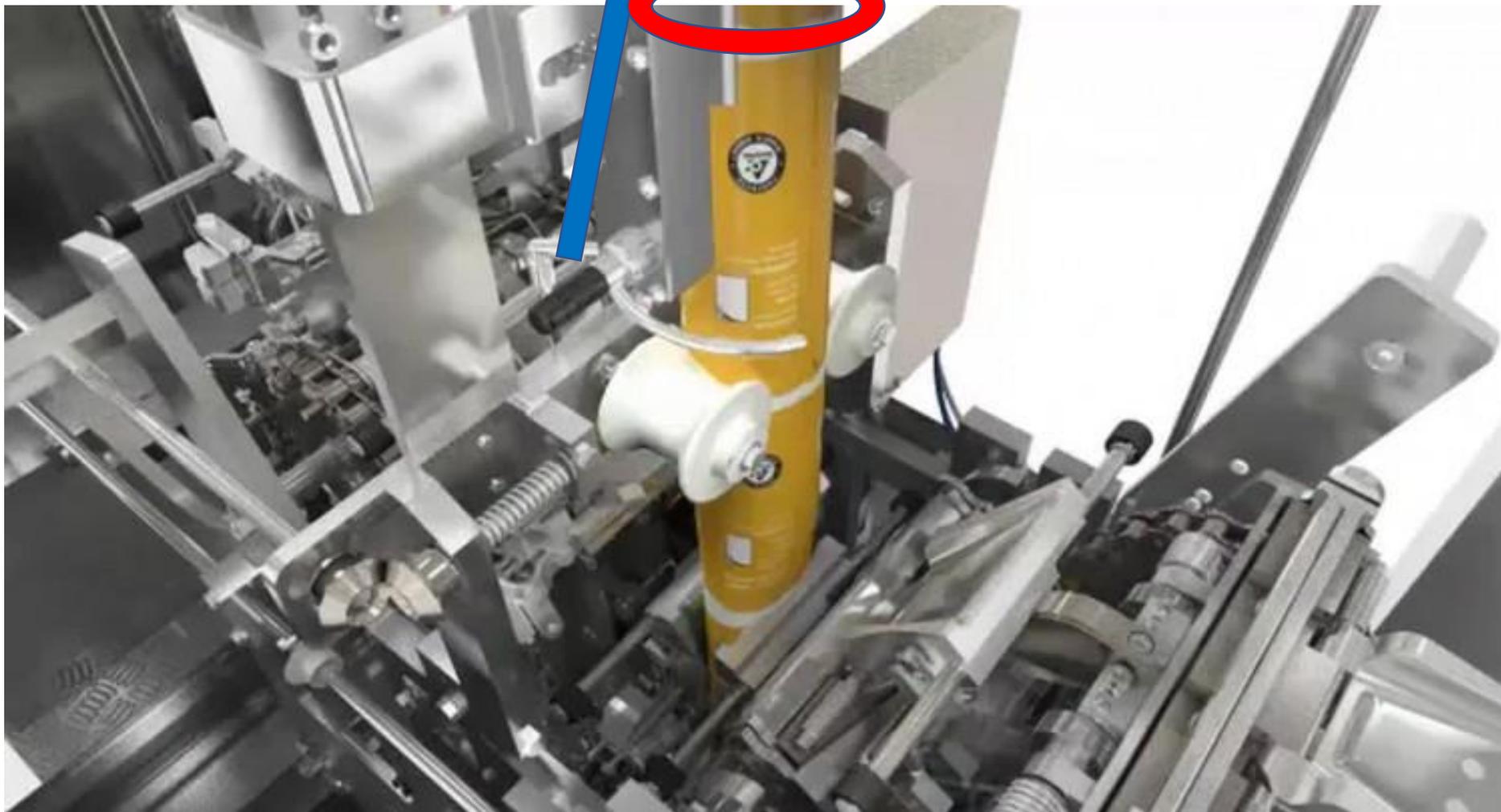
エアロゾルの
大量発生

汚れを運び込んだ場合には？

写真はイメージ画像です。サイズ仕様をよく確認下さい。



チャンバー下部からの吸い込み（エアバランス崩れる）



(1) ウォーターハンマー

蒸気配管中では一般に蒸気は20～30m/sで流れている。ウォーターハンマーは、水の塊が蒸気とともに高速で流れ、曲り管など流れの方向が変わったときに配管にぶつかって発生する現象である。図4に蒸気配管中のウォーターハンマーの発生過程を示す。

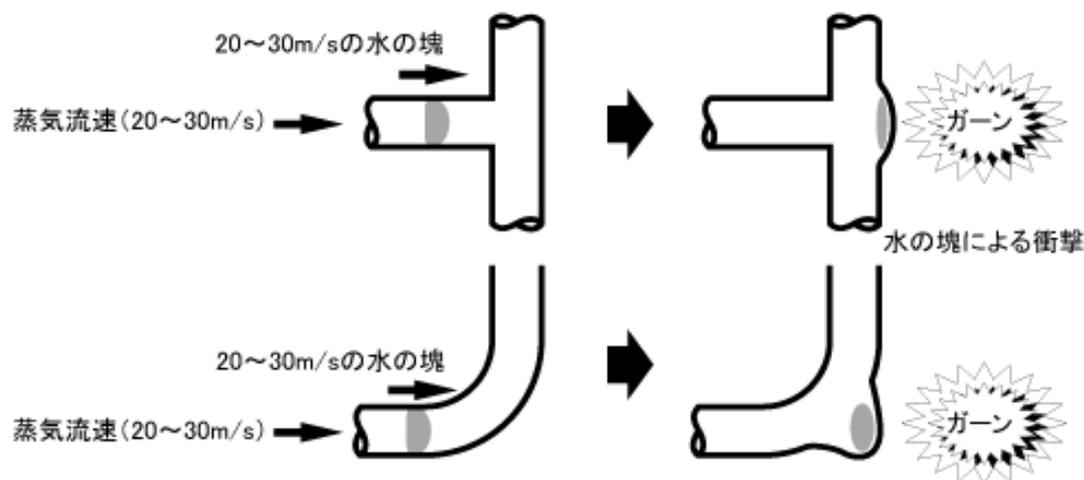


図4 蒸気配管中のウォーターハンマーの発生

この衝撃によって、配管の振動や騒音の発生、配管機器（エルボ、チーズ、バルブ、伸縮継手など）に損傷を生じることがあり、注意が必要である。

ウォーターハンマーは、蒸気配管中に滞留するドレンが原因となって発生するので、これを防ぐためには、要所で確実にドレンを排除する。

一例として ウォーターハンマー → 継手緩む → 液漏れ → 増し締め →

そのまま 報告しない → ガスケットには 製品+菌 生育 → また継手緩む

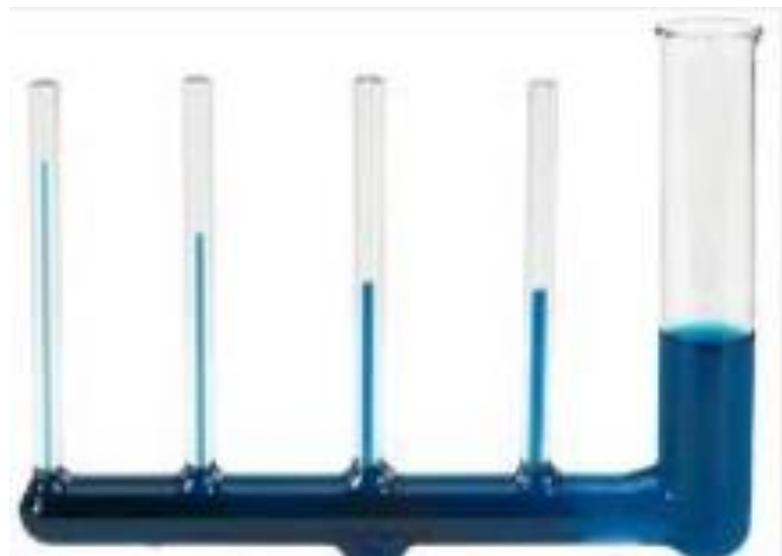
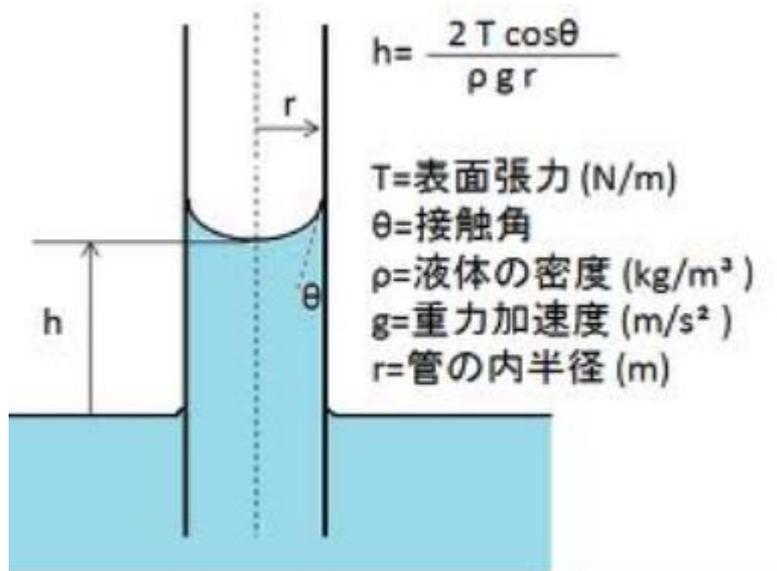
ファイナルフィルター取り出し後 パッキンをきれいにしてからCIP

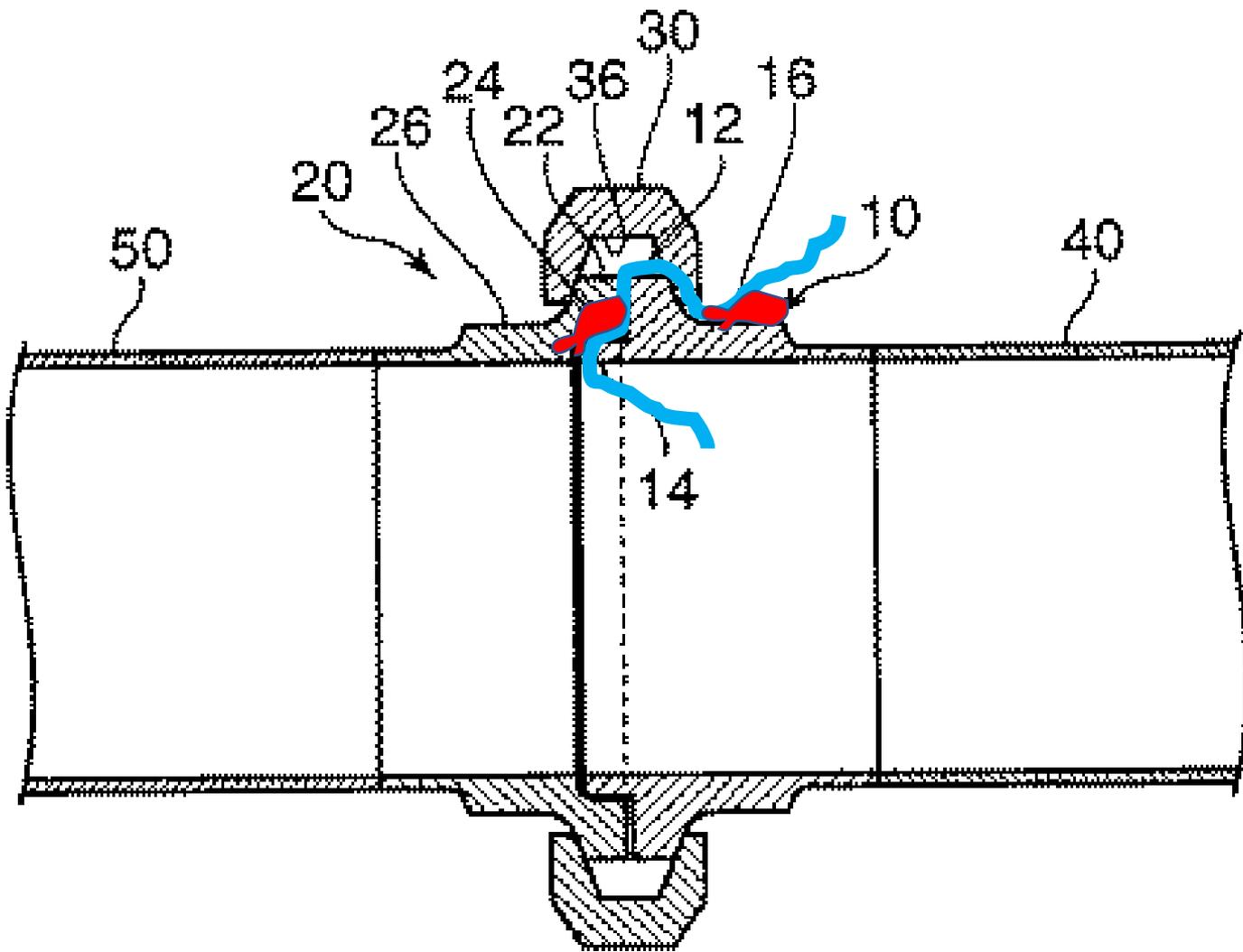


汚れを運び込んだ場合には？



でないと パッキン上に アルカリ・酸で焦げた汚れを形成してしまう







Aseptic Tank



フィルター、空気配管
蒸気滅菌後のタンク接合部



空気配管または 蒸気滅菌後

陽圧 ⇔ 陰圧

(1) ウォーターハンマー

蒸気配管中では一般に蒸気は20~30m/sで流れている。ウォーターハンマーは、水の塊が蒸気とともに高速で流れ、曲り管など流れの方向が変わったときに配管にぶつかって発生する現象である。図4に蒸気配管中のウォーターハンマーの発生過程を示す。

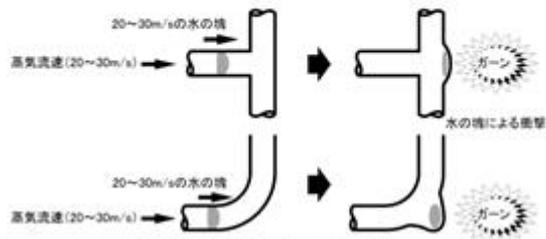
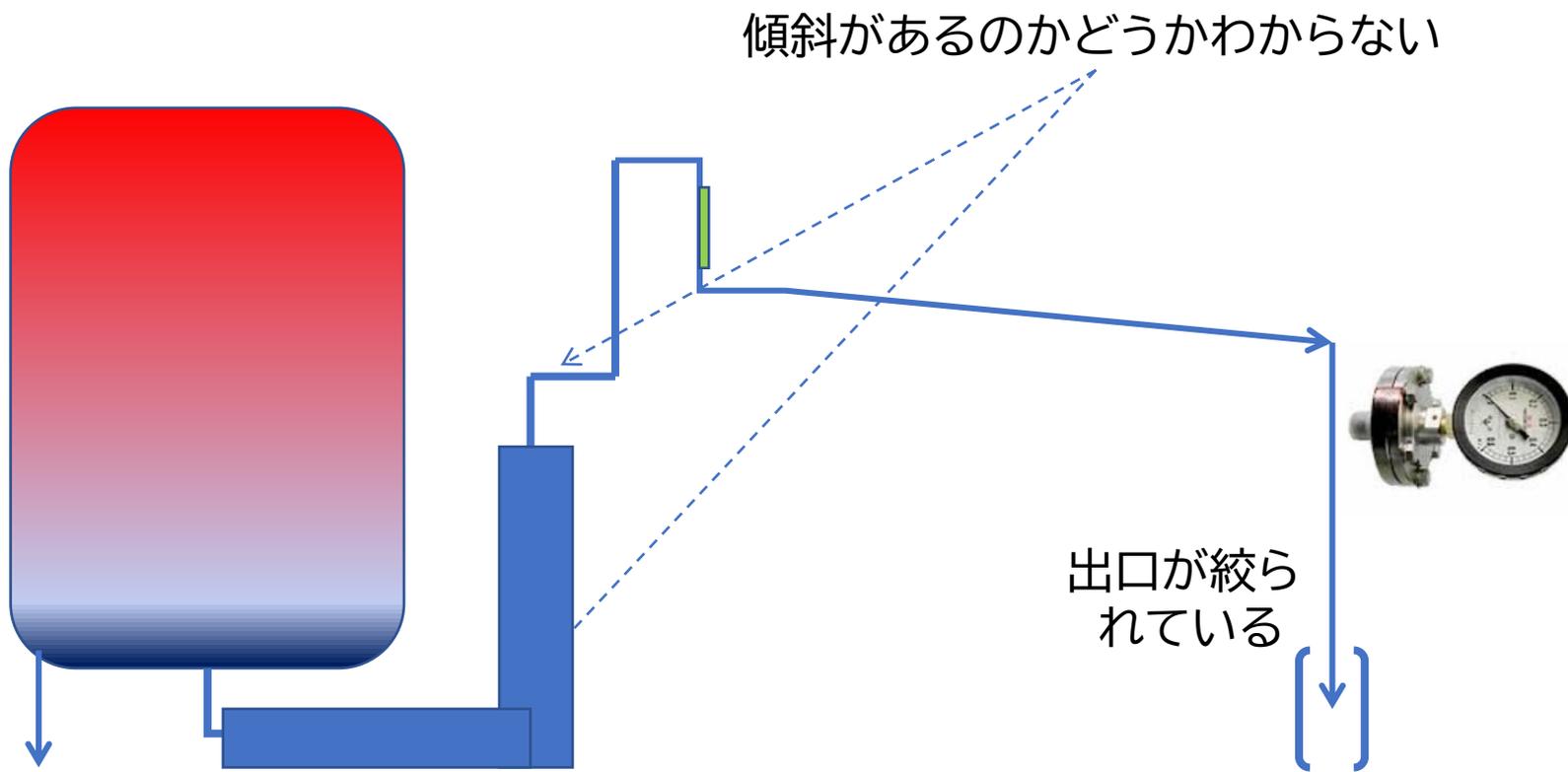


図4 蒸気配管中のウォーターハンマーの発生



Aseptic Tank





傾斜があるのかわからない

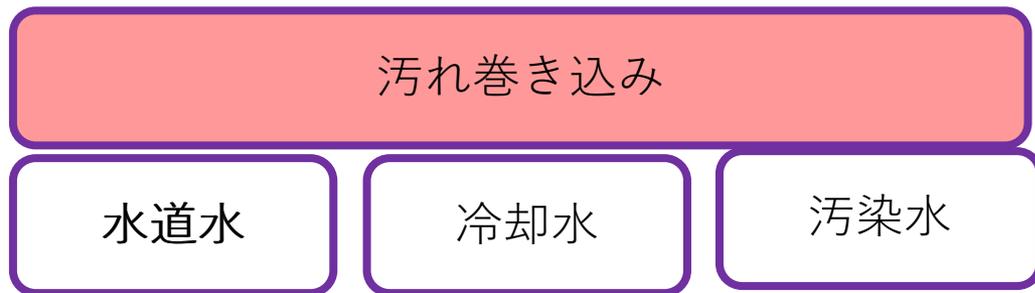
出口が絞られている

アセプティックタンクから充填機までドレン排出機能がない

アセプティックタンクからの
ドレン排出は 最下点ではない



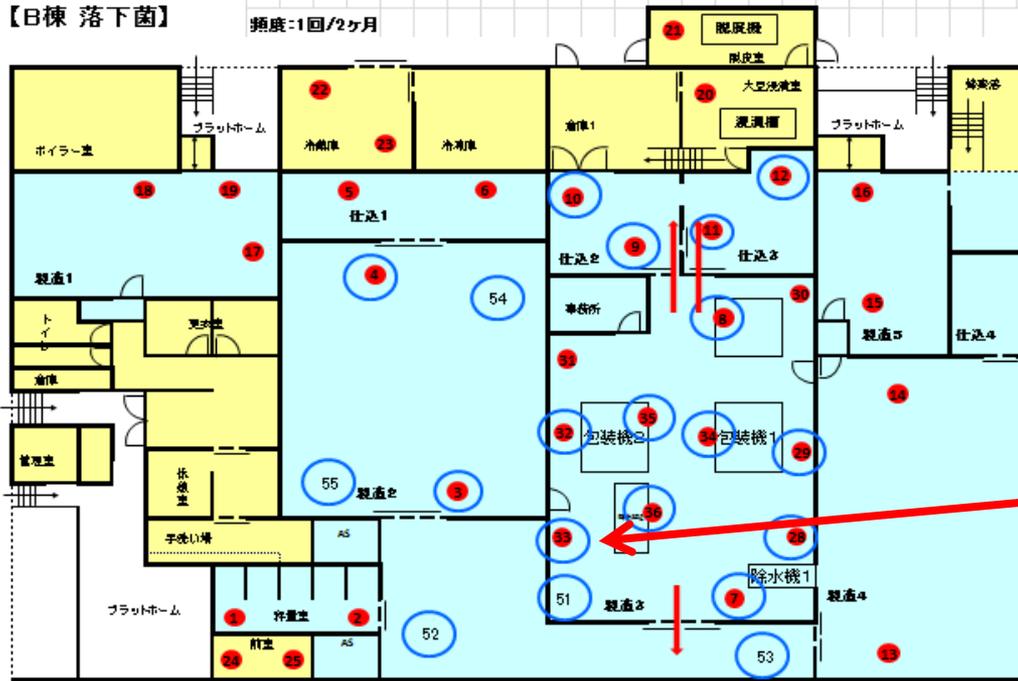
案外知られていないが
チャンバーがショートストップ
時などに陰圧になることがある



【B棟 落下菌】

頻度:1回/2ヶ月

改訂-002



■ 清潔エリア：落下細菌数 30個以下、真菌数 10個以下
 ■ 汚染エリア：落下細菌数 100個以下

A棟倉庫

	検査対象	測定値	
		一般生菌 (30個以下)	カビ・酵母 (10個以下)
3	製造2 空調①	2	4
4	製造2 空調②	1	2
7	製造3 空調①	11	16
8	製造3 空調②	-	4
9	仕込2 空調①	5	4
10	仕込2 空調②	3	2
11	仕込3 空調①	-	-
12	仕込3 空調②	-	1
28	製造3 除水機1(膜)	2	4
29	製造3 包装機1(裏)	3	17
32	製造3 包装機2(裏)	3	2
33	製造3 除水機2(膜)	TNTC	15
34	製造3 包装機1(充填箇所下)	4	7
35	製造3 包装機2(充填箇所下)	4	7
36	製造3 除水機2(下)	4	10
51	製造3通路側 左角	13	38
52	通路エアシャワー前	-	-
53	通路製造4 手前	1	4
54	製造2 仕込み1手前 右	1	2
55	製造2 入口 左	7	5

○社の例

151



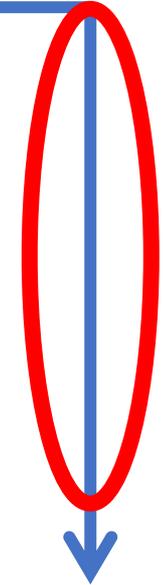
PRP=ハイジーンエンジニアリング





クリーンな水または製品による
水柱 = 水封

高い位置を這って
最終バルブクラスタへ



① Raw materials / pre-processing



② UHT installation

③ Product line between UHT-installation and Aseptic tank



④ Aseptic Tank

⑤ Product line between Aseptic Tank and A-valve of filling machine

⑥ Aseptic Filling machine



⑦ Valve arrangement with steam barrier
Drainage CIP

Product line between A-valve and steam barrier & end valve cluster



熱対流

水柱 ≠ 水封

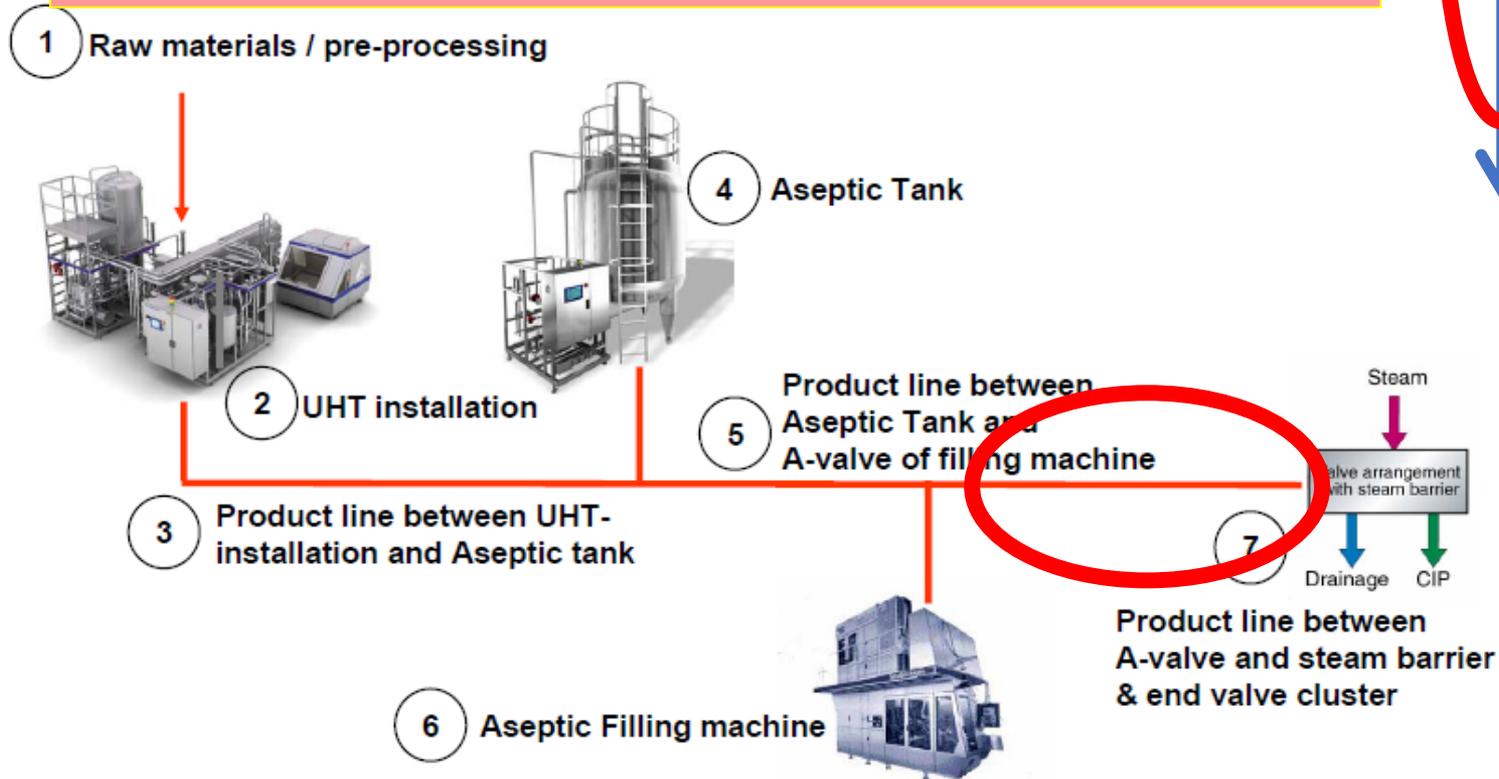


“泡”の上昇

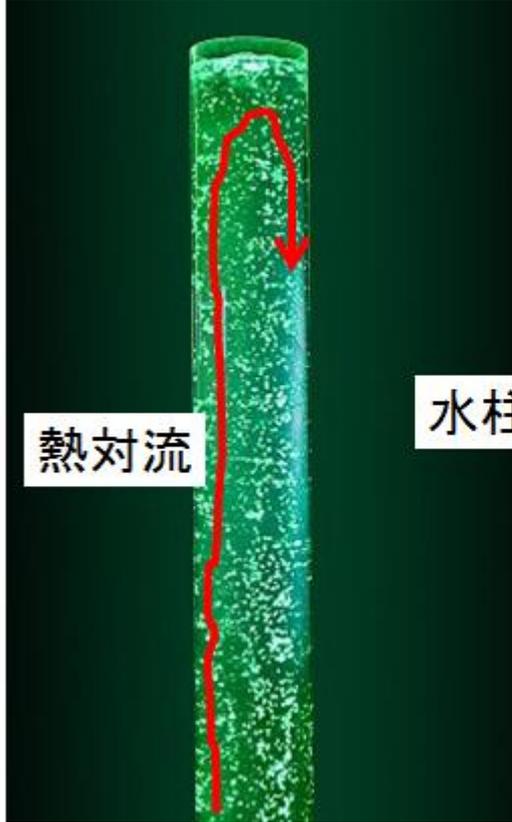
水柱 ≠ 水封

高い位置を這って
最終バルブクラスターへ

だからこそ T社は 製品の無駄を惜しまず
この配管を長くとっている



N社の例



水柱 ≠ 水封



最強の敵・・・バイオフィルム

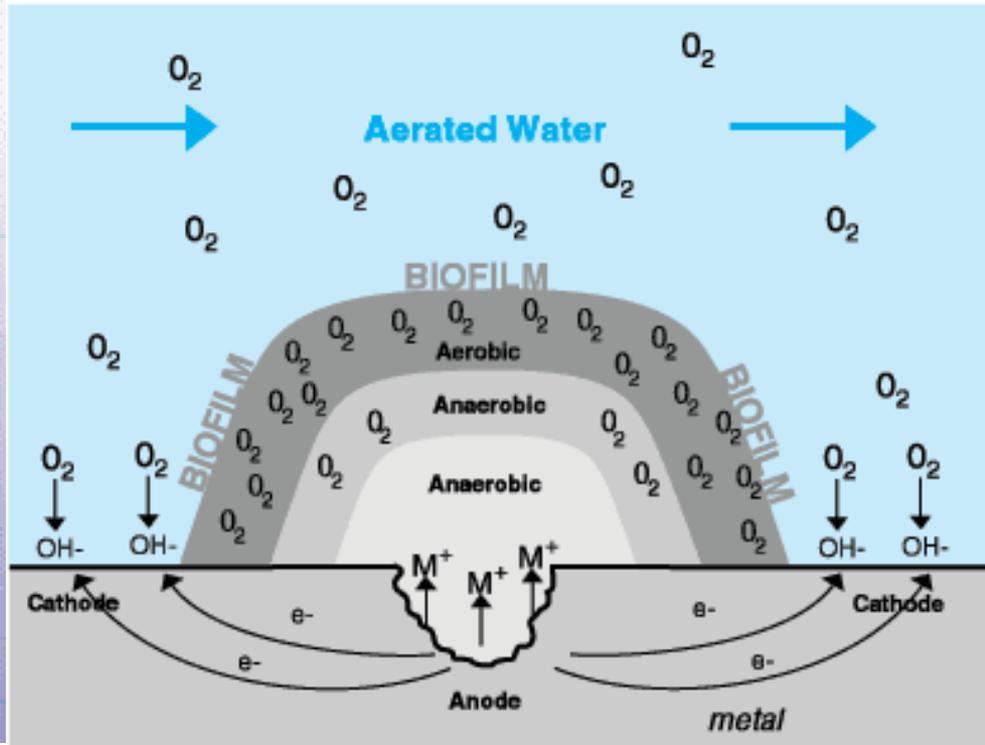
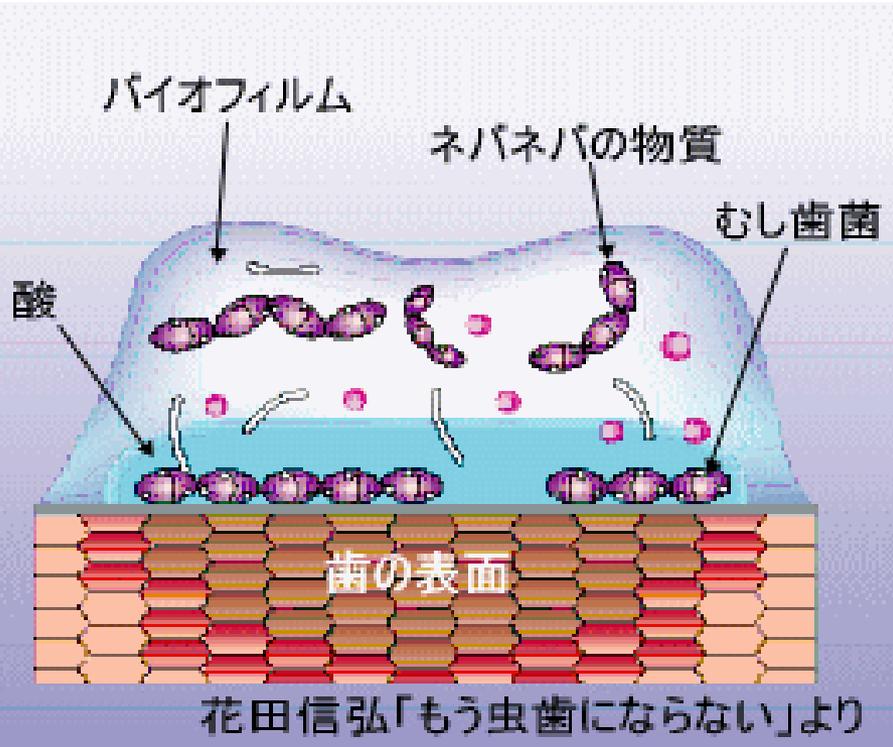


そしてこの最強の敵
・・・バイオフィルムは

目に見えないことが多い



今までの不可解な現象の多くがバイオフィームで説明可能



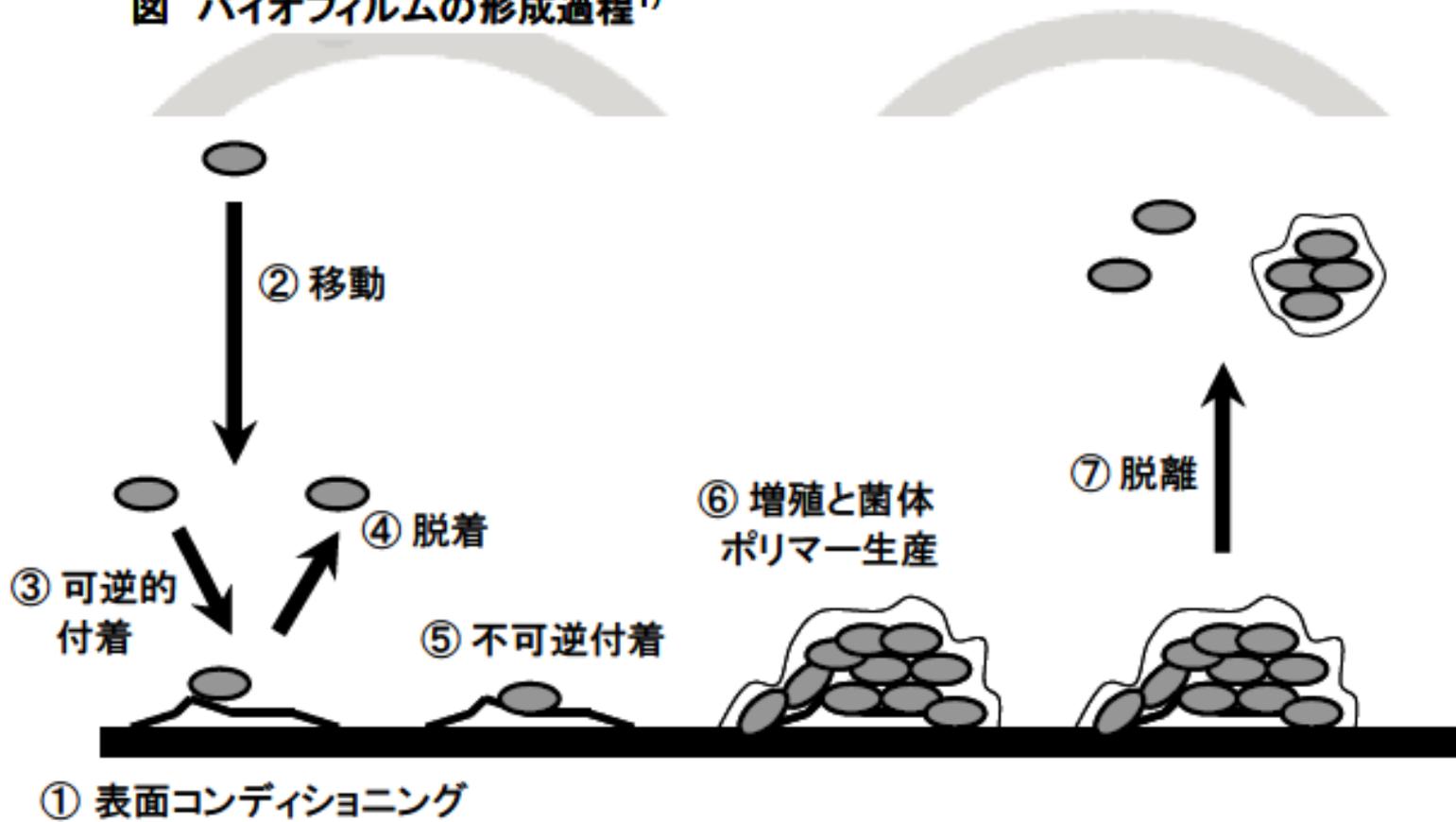
バイオフィルムとは何か？

”正確にはバイオフィルム（生物膜）としてよく知られているが、スライム（ねど）シティは水があるところならどこでも、台所でも、コンタクトレンズでも、動物の腸管ライニングにも、はびこっていく。そのシティが郊外へどんどん伸びていけば、バイオフィルは肉眼で見ることができるようになり、水道管の内部をコーティングしたり、あるいは鉛管設備からつるつるして緑色にぶら下がってくる。”（Coghlan 1996）

簡単にいえば、バイオフィルムとは微生物が排泄するスライムで囲まれた微生物の集合体であり、自動力のない表面または生きた表面に付着している。あなたはすでにいくつかのバイオフィルムを知っている：歯の上に付いたプラーク、川の石の上のぬるぬるしたスライム、花を1週間いけておいた花瓶の内部のゲル上の薄膜などである。

すべての細菌の99%以上はバイオフィルム社会に住んでいる。有益な細菌もある。たとえば、污水处理プラントは水から汚染物を除去するためにバイオフィルムに依存している。しかし、バイオフィルムはパイプを腐食させたり、水フィルターを詰まらせたり、医療インプラントの拒絶を起こしたり、そして飲料水を汚染させる細菌を保持したりすることによって問題も起こす。

図 バイオフィルムの形成過程¹⁾



■ 結果および考察

S. Typhimurium 及び *P. aeruginosa* は、バイオフィルムの耐熱性が高かったものの、*S. aureus* を除いた他の 3 菌株では浮遊菌の方が高い耐性を示した。このことから、本ガラスビーズ法を用いた検討では、バイオフィルムが必ずしも浮遊菌に比較して高い耐熱性を示すわけではなかった。また、培養上清添加も耐熱性を低下させるものと上昇させるものが存在した。このことは、細胞間情報伝達物質が耐熱性に関して様々な影響を及ぼすことを示している。次に、最もバイオフィルムの耐熱性が高かった *P. aeruginosa* について、バイオフィルムの滅菌条件を調べたところ、65°C、10 分の条件で滅菌を達成できた。ただ、バイオフィルム形成法に関してはさらなる検討が必要であると考え、*E. coli* IAM1264 を用い詳細な検討を行った。その結果、振とう培養により形成させたバイオフィルムとは異なり、静置培養により形成させたバイオフィルムは浮遊細胞に比較して耐熱性が上昇することが確認できた。また、*E. coli* IAM1264 浮遊細胞の耐熱性に及ぼす AHL 添加の影響に関する検討の結果、アシル鎖長 6、8、10、14 の AHL が耐熱性を減少させる効果を有していた。

消毒薬からの保護

“いったん微生物が付着したら、それらは通常の消毒プロセスに耐えることができなければならない。バイオフィルム細菌は殺菌剤に対する抵抗性を発揮する。これはすごいことである (LeChevallier1988)”

この研究者はバイオフィルムを伴った細菌は浮遊細菌よりも遊離塩素に対して150～3000倍、モノクロラミンに対して2～100倍抵抗性が高いことを証明した。

別の研究者の仕事 (Anderson1990、下記要旨参照) は、緑膿菌はその攻撃物をかわす賢明な手段を持っていることを示唆している：緑膿菌はパイプ内部にたまる粘着性のスライムを分泌する。給水システムの中をフラッシュされる殺菌剤は浮遊微生物を殺すが、粘着性のバイオフィルムに埋没された細菌には触れることができない。

バイオフィルムは 細菌の耐熱性や耐薬品性(例:過酸化水素)を極端に強化することがある

ごくわずかの汚れ + 水 + 菌 + 適した温度 + 時間 → バイオフィルム

- CIP残渣
- ふき取り残渣
- エアロゾル
- 浸透
- 転写
- CIPリンス水
- 結露
- 浸透水

この「わずかの汚れ」というのは 目で見てわからない程度でもよく
いわゆる 一般的なCIPバリデーションくらいでは 検知できないことが多い。

乾燥させる それが できない場合(閉鎖系では できないことが多い)時間経過
したら

再CIP 再滅菌をおこなう という原初的な対応のみ可能

もし 検知できたら 手洗いなどの 洗浄強化、殺菌剤への浸漬、
組み立てまで 乾燥保管などの補助的手段をとる

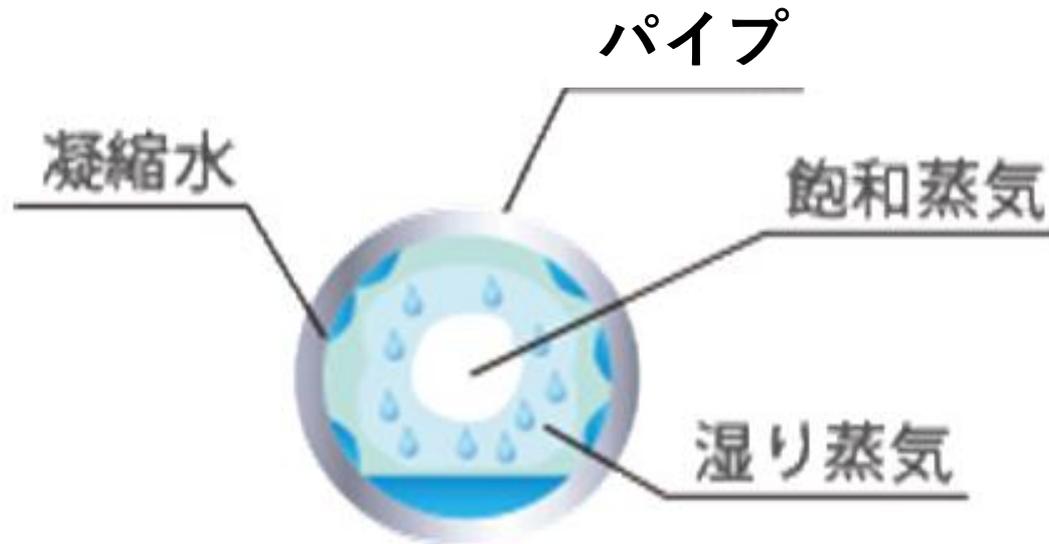
CIPバリデーション

- 負荷をかけた製造を行う
- CIPプログラムを実行する
- 残された汚れがないか目視点検する
- リンス水のATPなどで 汚れの残留の有無を判定する
- 直後の(微生物)ふき取り検査で判断する
- 数か月後にモニタリングポイントを再度目視点検する

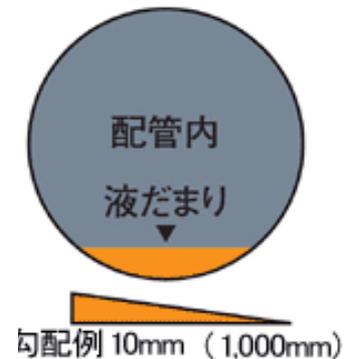
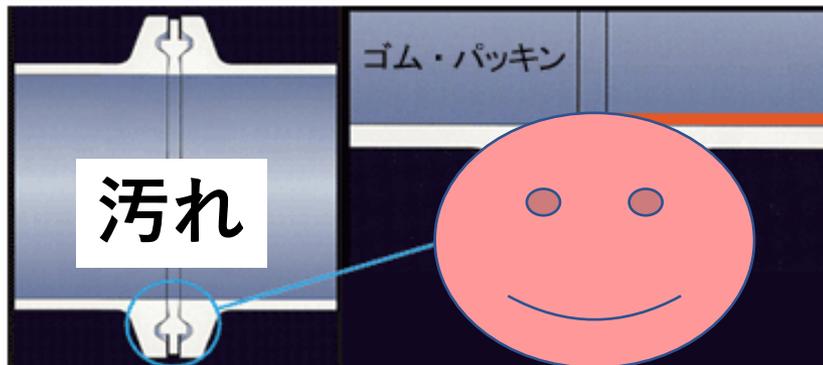
CIPバリデーション

- 負荷をかけた製造を行う
- CIPプログラムを実行する
- 残された汚れがないか**目視**点検する
- リンス水の**ATP**などで汚れの残留の有無を判定する
- 直後の(微生物)ふき取り検査で判定する
- 数か月後にモニタリングポイントを再度**目視点検**する





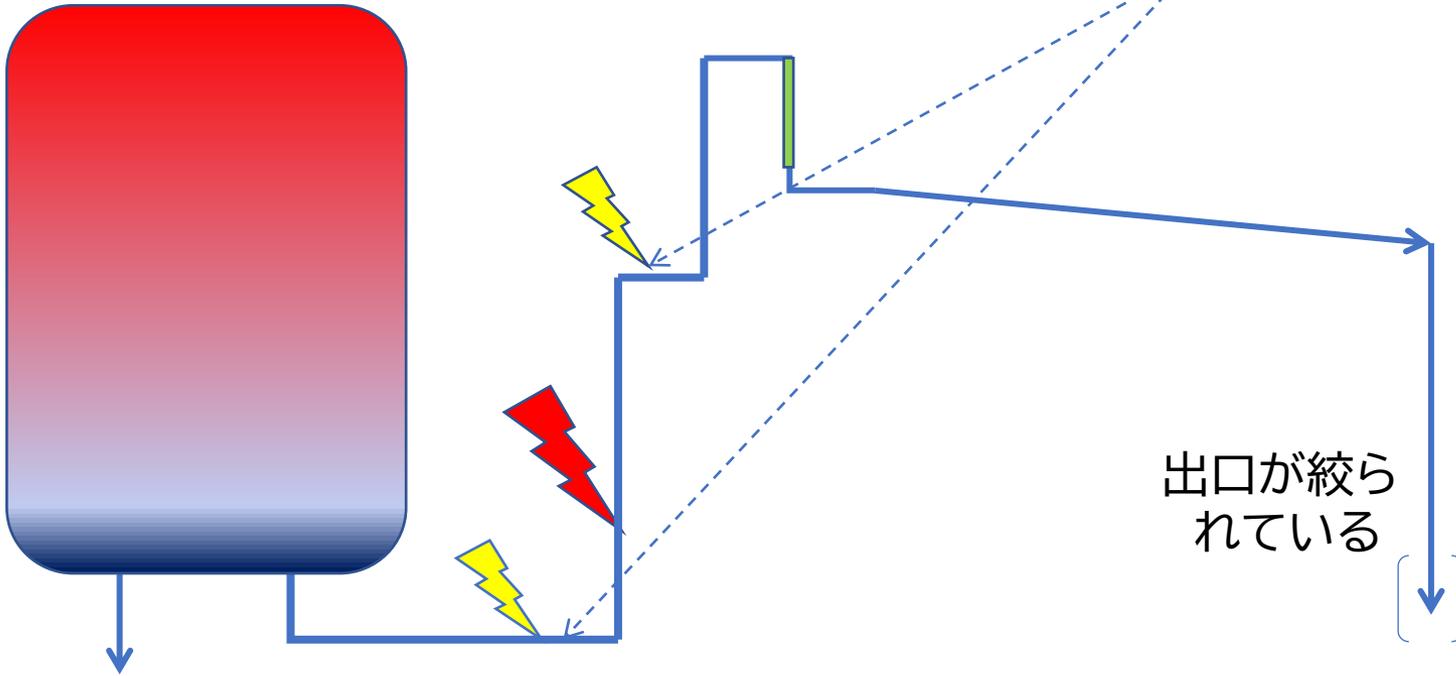
配管内液だまり(ダム化)の現状」



例: 100箇所の継手を使用した時の滞留(液だまり)の量
 1.5S 4mm 突き出したゴム・パッキンの場合、500ml (ペットボトル8本分以上)



傾斜があるのかどうか分からない

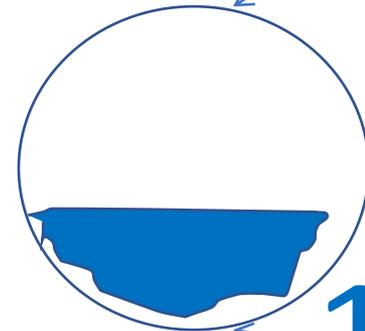


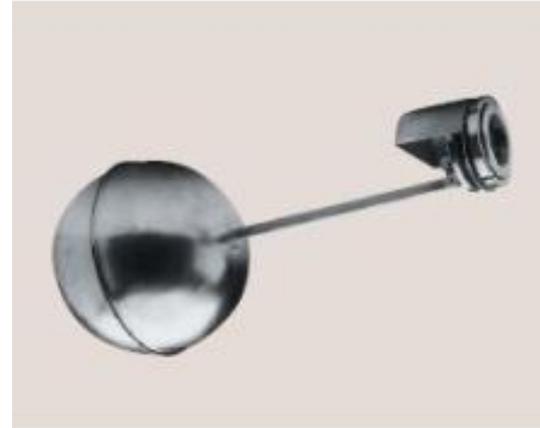
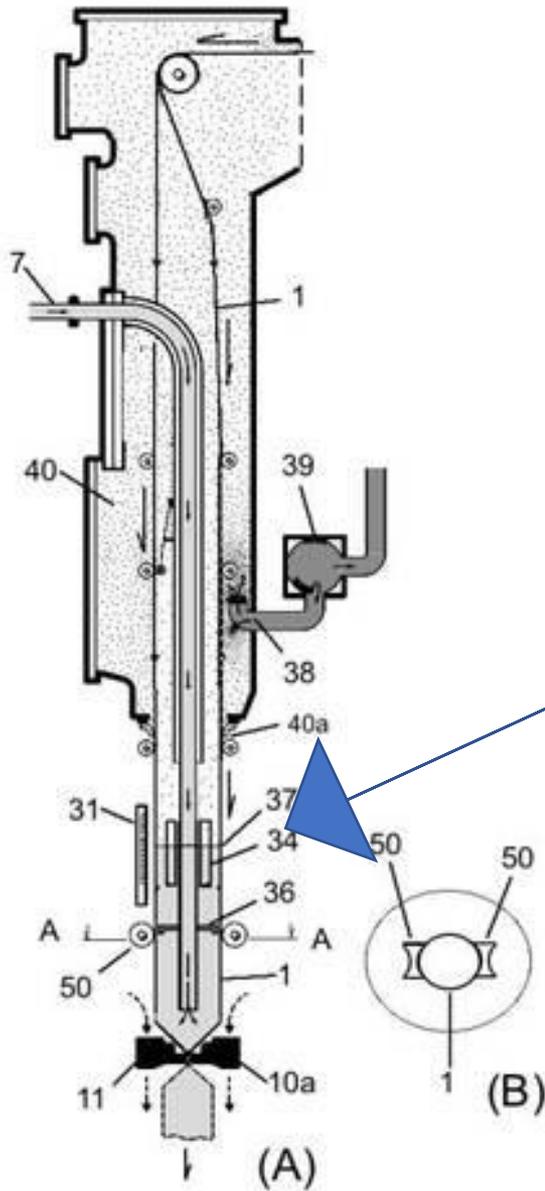
出口が絞られている

アセプティックタンクから充填機までドレン排出機能がない

アセプティックタンクからの
ドレン排出は 最下点ではない

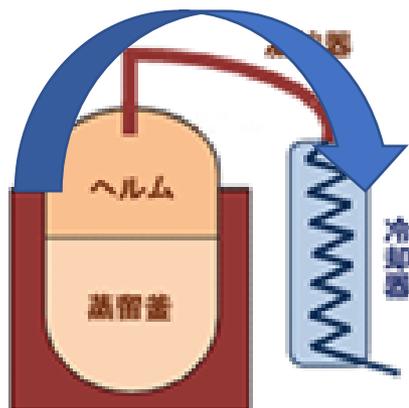
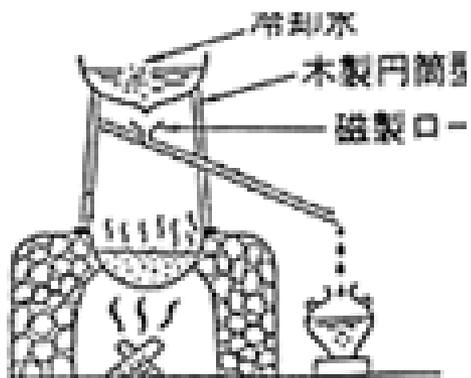
表面温度
計測くらい
しか手がない



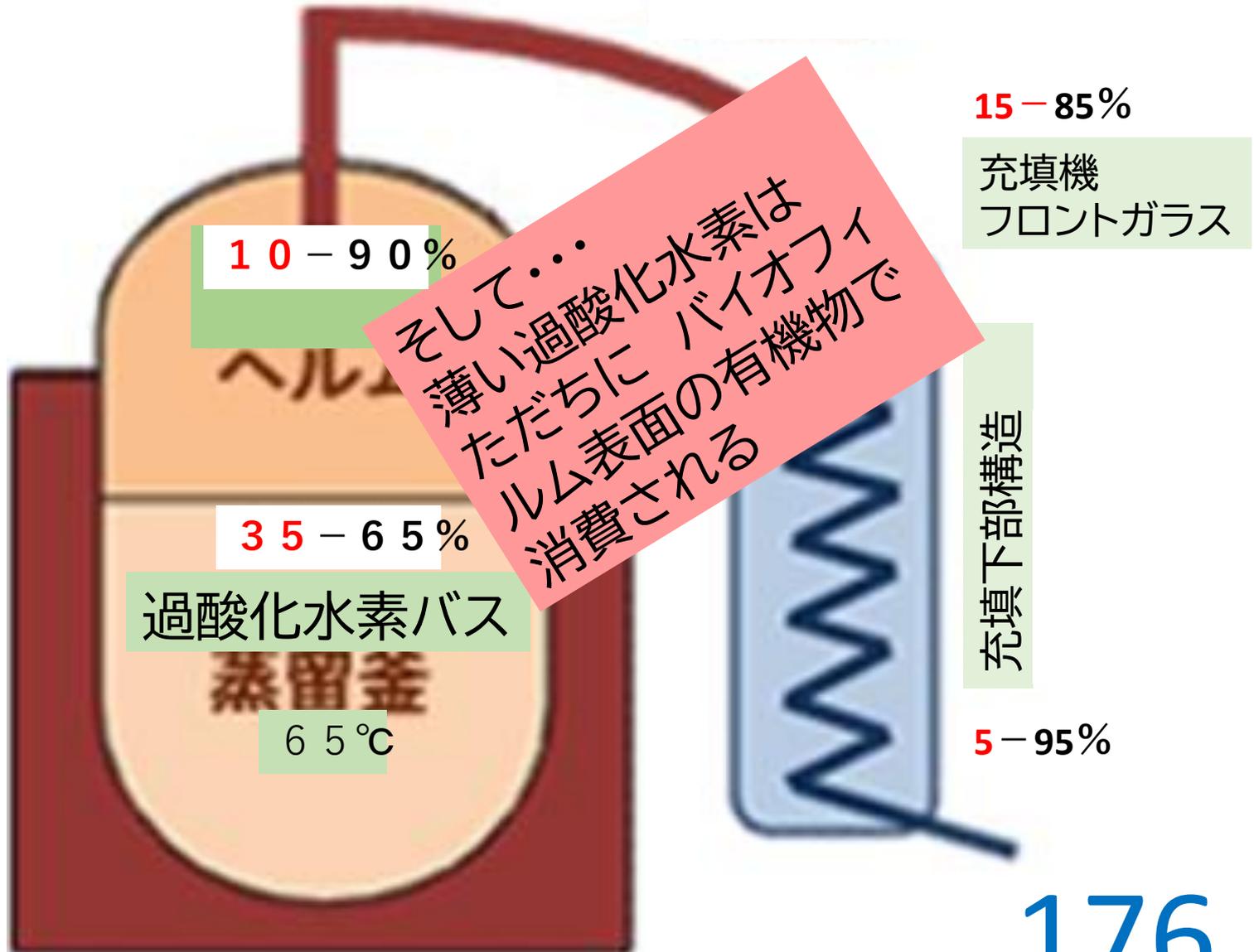


フロート： 取り外し 洗浄の後
 使用直前まで（バイオフィルム
 形成防止を一つの理由として）
 殺菌剤に浸漬
 ●重量チェックを忘れずに





極端に言えば...



この中には
目に見えなくても
製品の飛沫など
びっしりとついている

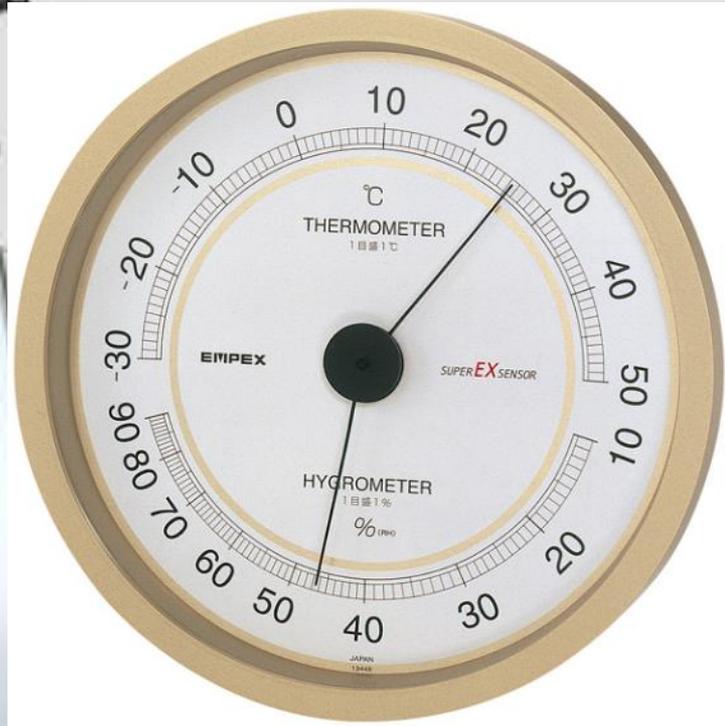
Enterobacteriaceaeまで発見されたことがある

停止時には 窓を開けて換気

品質保証は決して 落下菌(虫、異物)が入るから
窓を閉めなさい・・・などといわないように！！！！



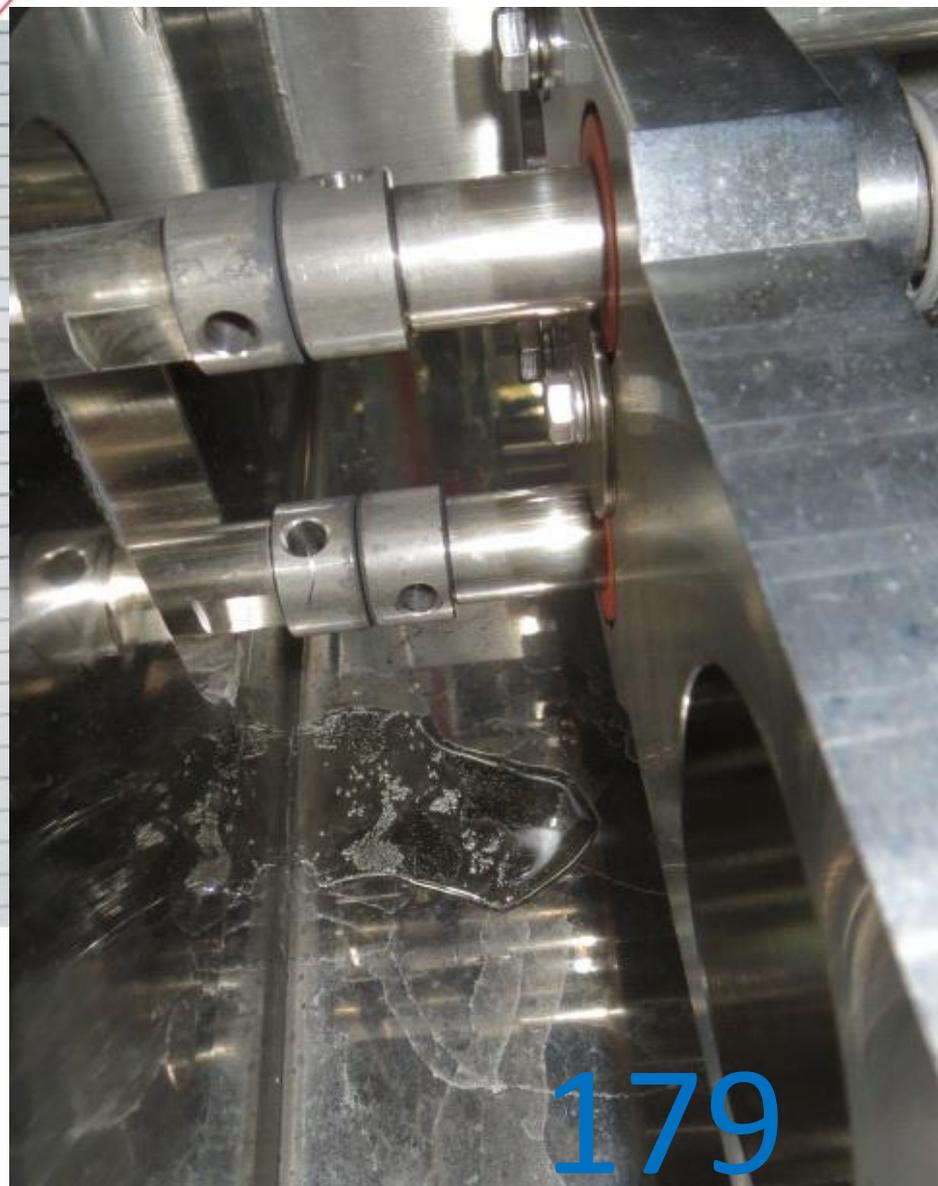
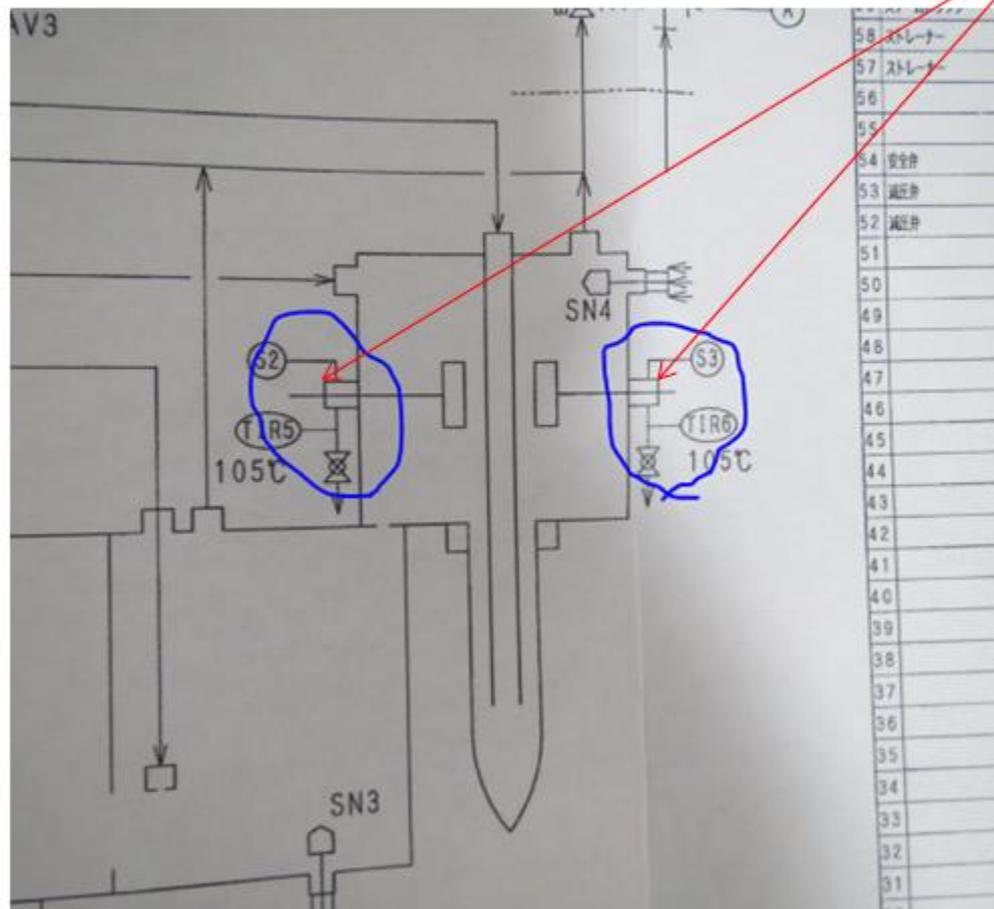
チャンバー結露防止
FFU内の微生物増加を防ぐため
最低条件として
湿度60%以下 温度26℃以下を
提唱



無菌チャンバー内の濡れ：⌘

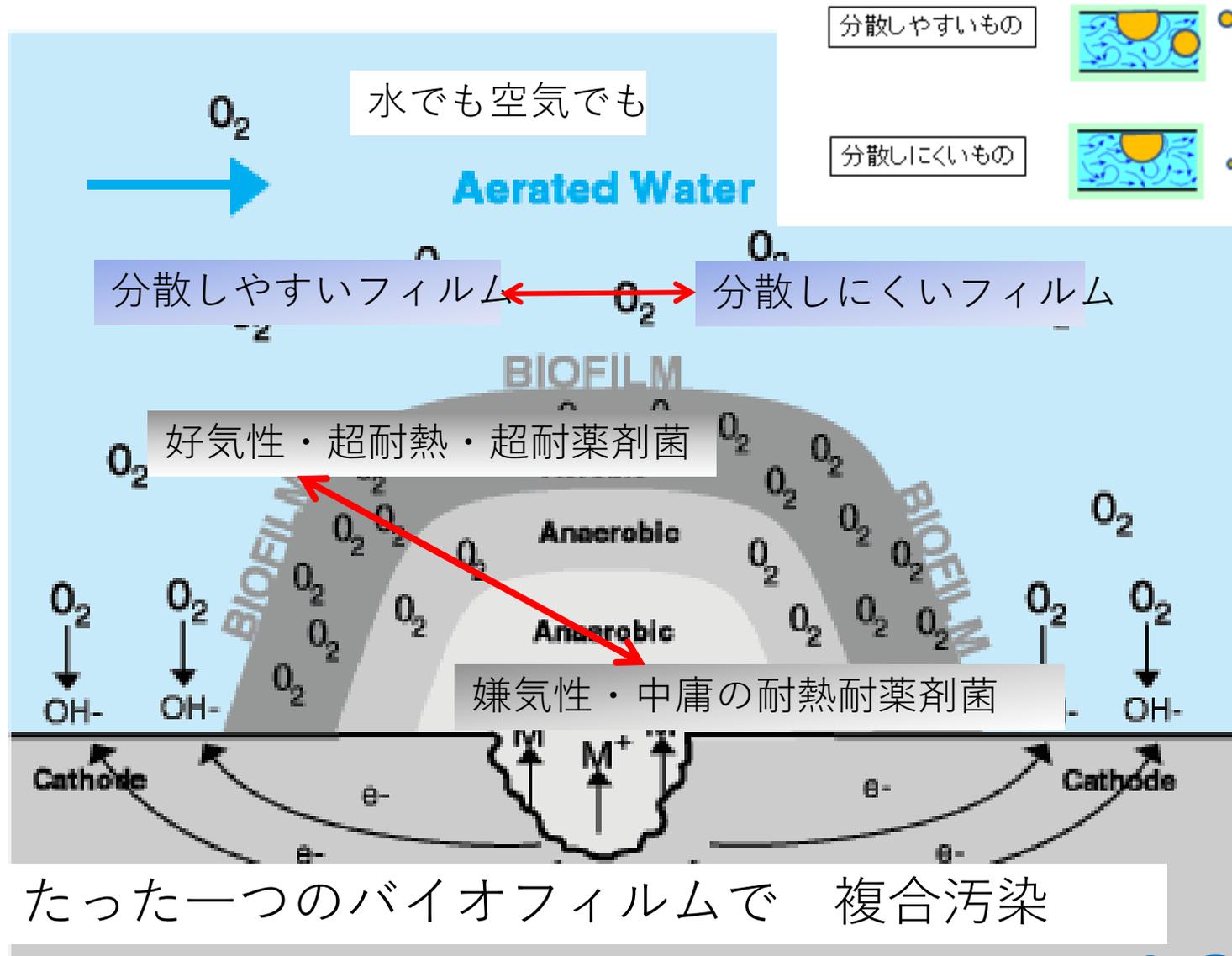
⌘

これは下の図面にある 縦線シールを形成するためのプランジャーに付随する蒸気バリア由来のドレンの侵入によるものとみられる⌘



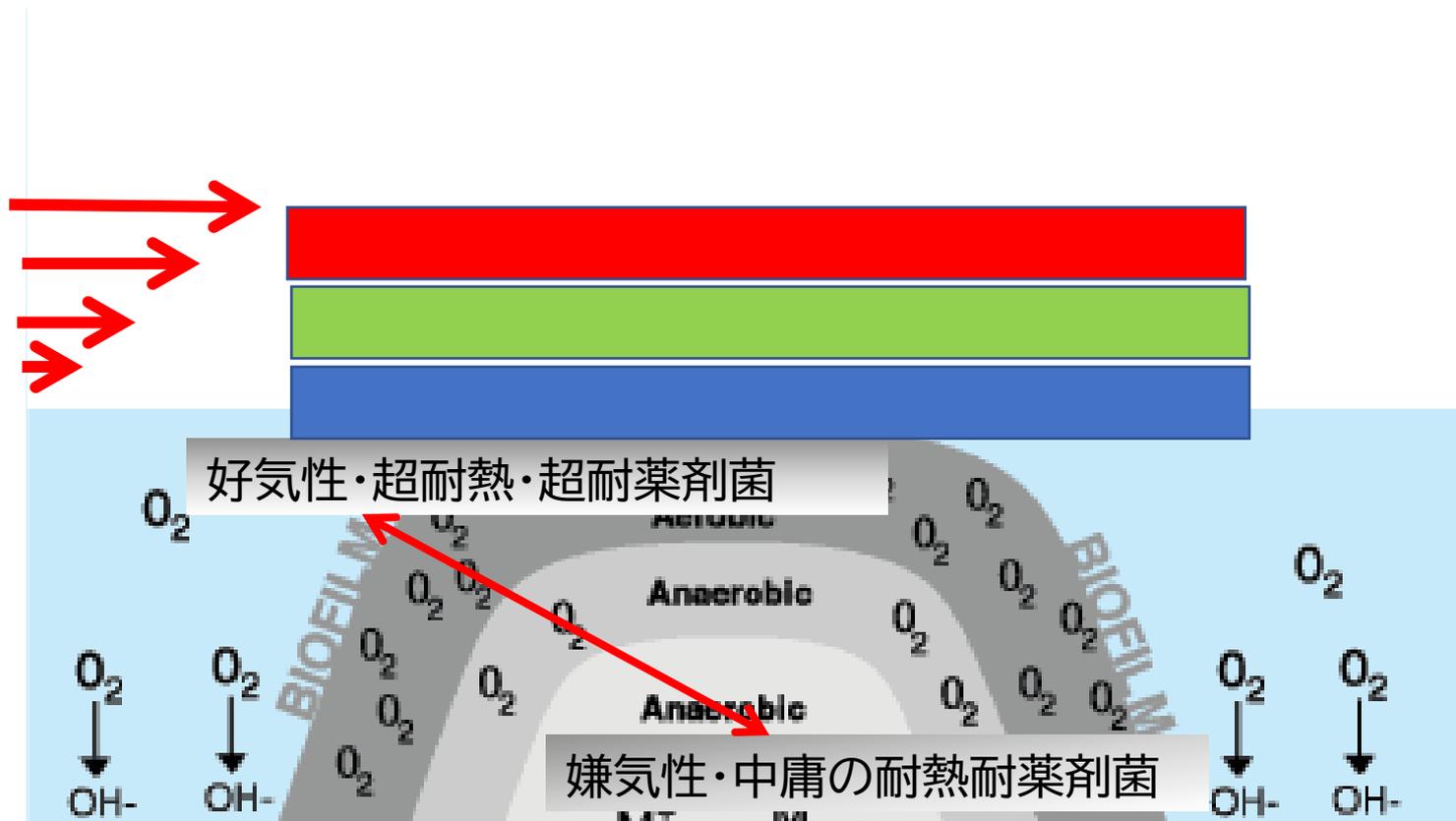
实例：O社

バイオフィルムの怖さ



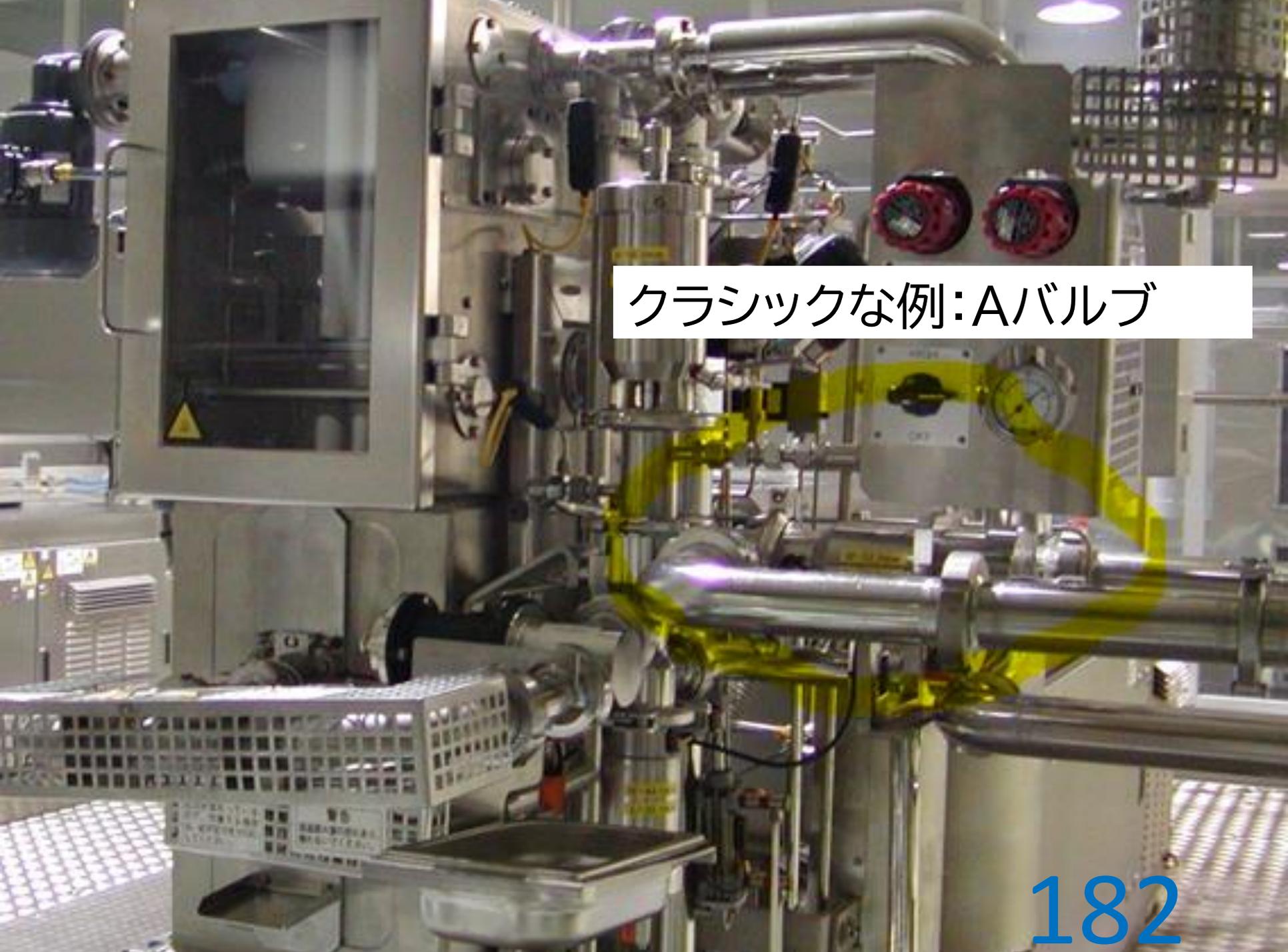
たった一つのバイオフィルムで 複合汚染

バイオフィルムの怖さ



熱水であれ 凝縮水であれ 層流だとさらに コールドスポットを形成





クラシックな例:Aバルブ



C-100mm
E-100mm

C valve

HIGH PRESSURE LOW PRESSURE

HIGH

A valve

Flow Regulator

ing pipe

N=32.3mm
L=40.0mm

Liqu

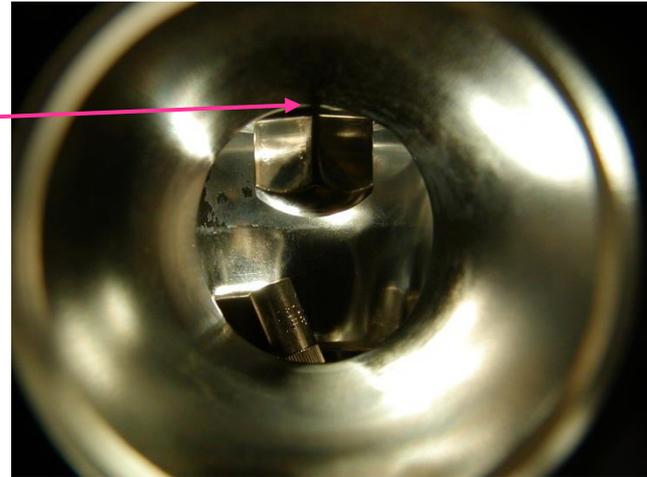
B valve

183

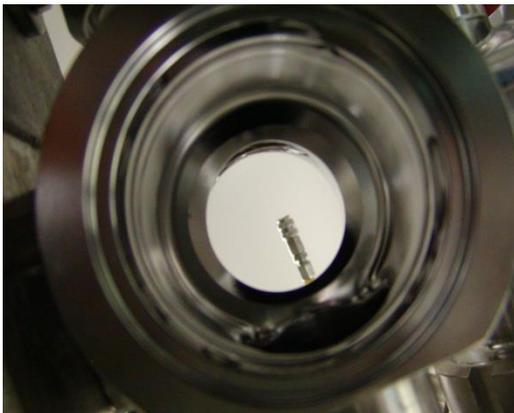
Learning from incidents in Japan

Tetra valve “B”

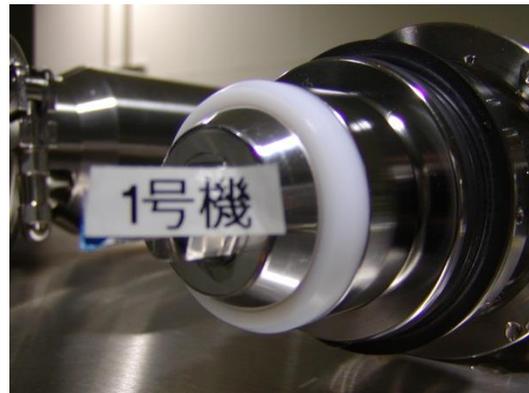
Found small residual fouling on the inside surface of valve body after CIP



Body



Valve Stem



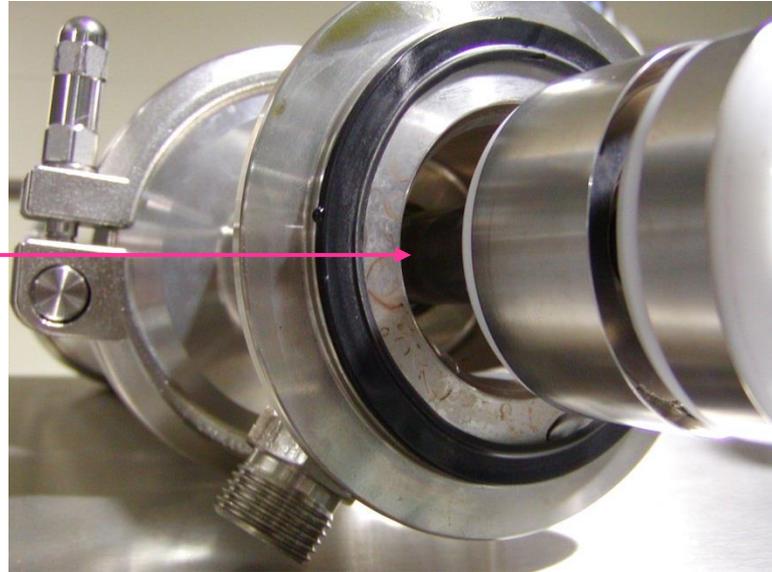
Head



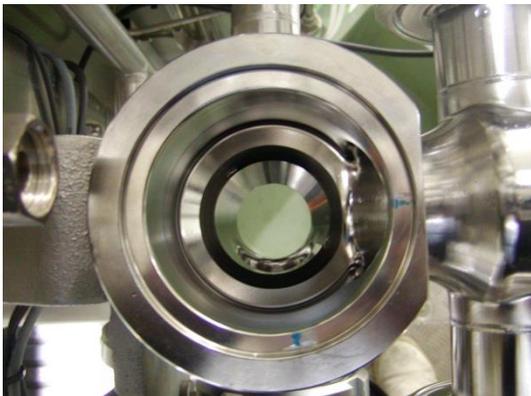
Learning from incidents in Japan

T Co valve “C”

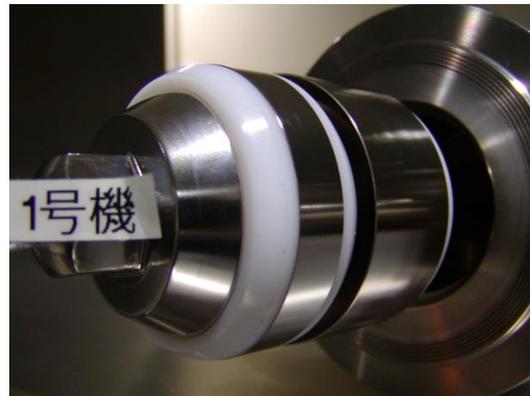
Found small residual fouling on the surface after CIP where steam barrier is applied in the back side of valve stem



Body



Valve Stem



Head



Learning from incidents in Japan

T Co. valve "A"

Found no remarkable residual
after CIP



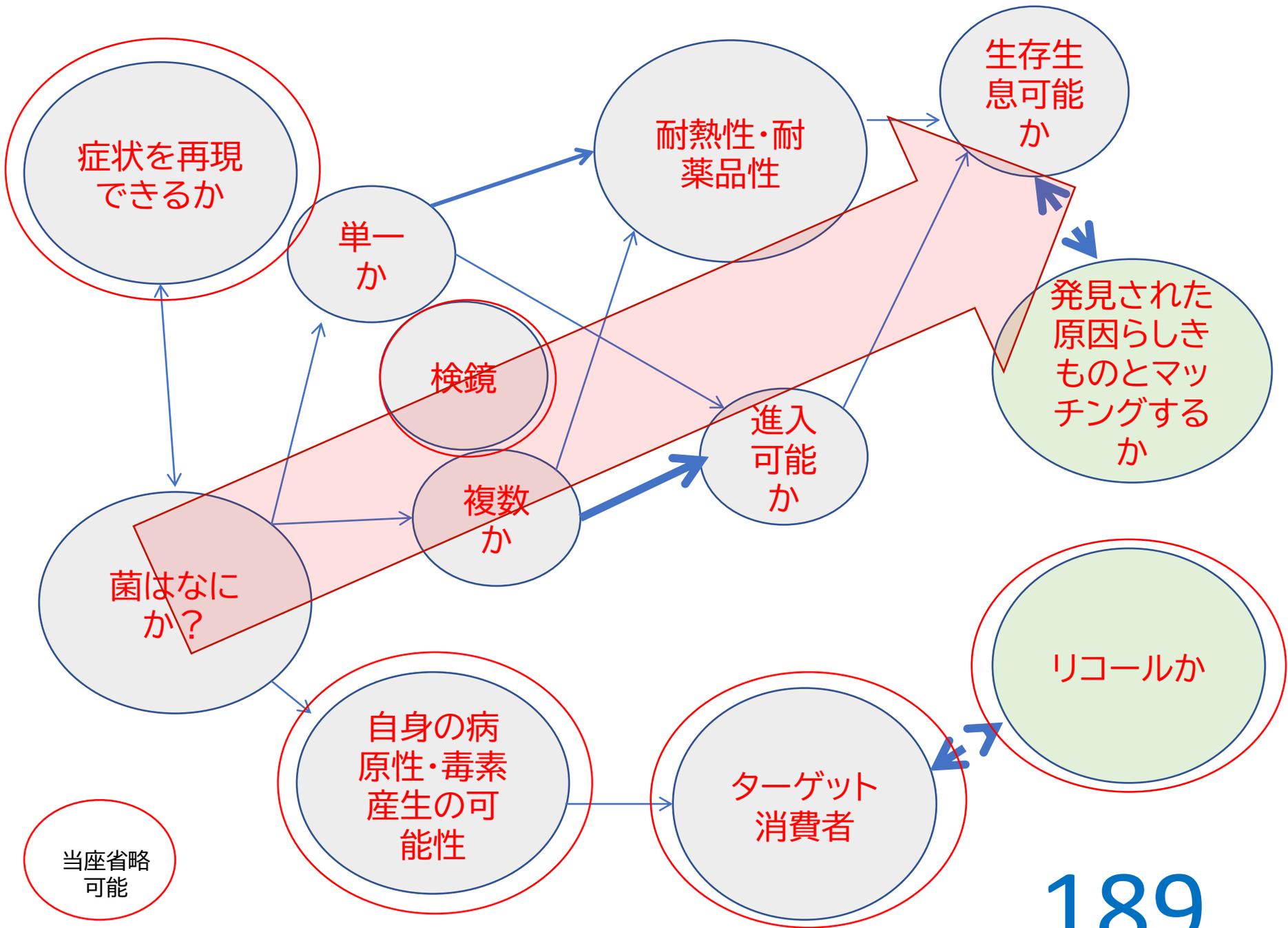
いずれにしろ担当者の五感が大事

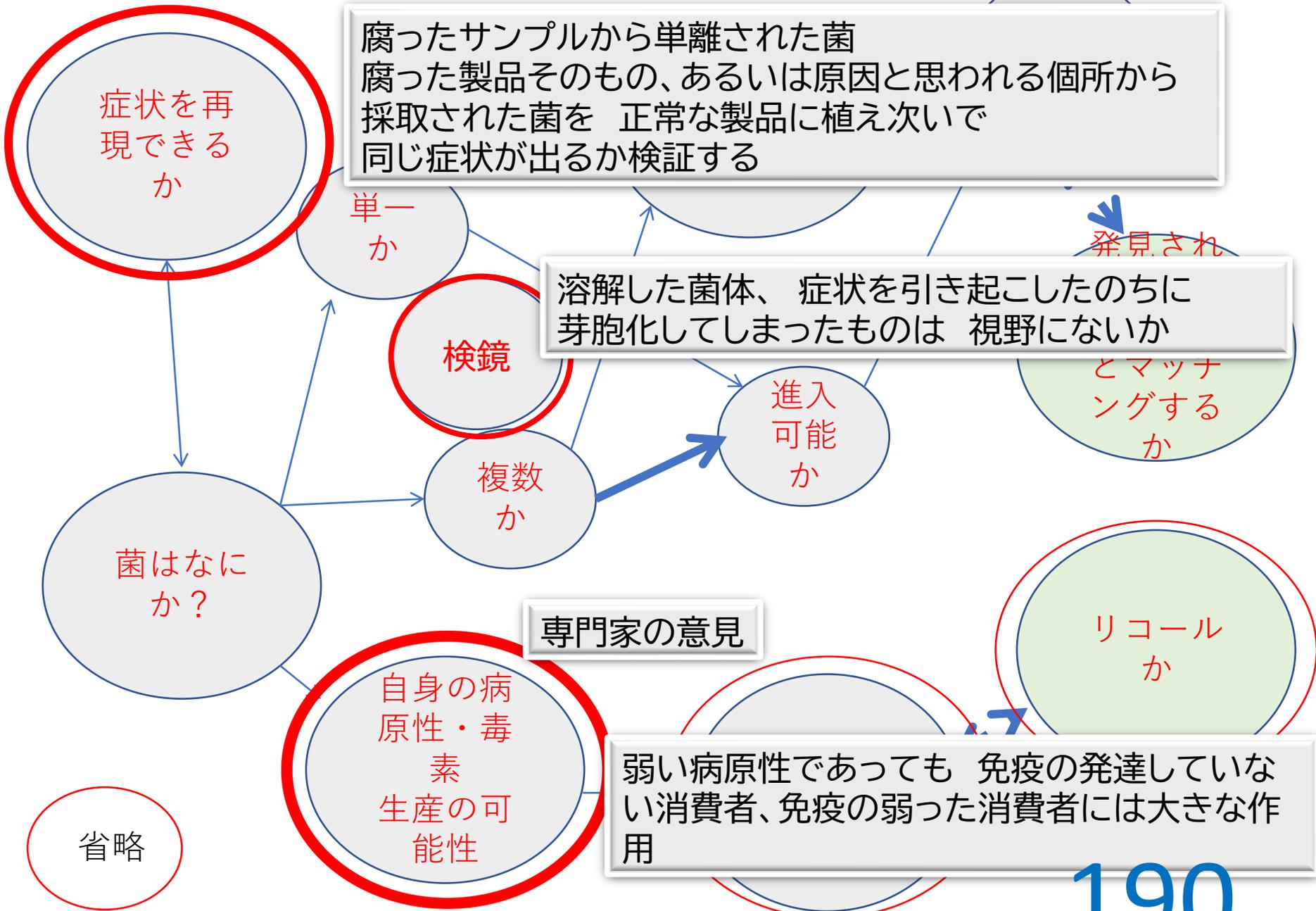
- 光り方が違うかないか
- めめり 粘りが無いかな
- いつもと違う匂いがしないか
- 前兆として・・・傷がついていないか



T社のバイアス

- すぐにピンホールと決めつけたがる
- (パックチェックしながら ピンホールを作ってしまう)
- 包材メーカーとしては二流
- パーツを やたらと替えたがる(毎度あり!)
- インダクションにまでトラブル
- グローバルに何が起きているのか 知らないのか とぼけているのか・・・なんでマシンのデザインが変わったのか その理由は決して言わない





まとめ

- T社提供のテキストはいわば「空手の型」、実戦では 相手は「動く」。
- 通常は 証拠の抹消が すでに なされているものと覚悟する
- できるなら証拠の温存(勝手に触らせない)
- すべてのデータに 過誤が含まれていることを前提とする
- データは できるだけ 多くの件数を入手する
- 手に入った証拠と 観察される事実を突き合わせる
- その間に 論理的な整合があれば おそらくは それが真因と結論して
よい

まとめ

- 論理的な整合を問うためには やはり 経験に裏打ちされた知識が必要
- 一人では無理 / チームでトラブルシューティングを！

アジェンダ

■「応用編」の復習

■トラブルの様々な

■極みとしてのアセプティックでのトラブル
シューティング

■理解度チェック

第一問



事件の特徴

- 月曜生産されたものに膨張が出る。ほかの曜日には出ない。市場からのクレームはない
- 膨張パックの培養温度は 30℃、55℃。しかし 55℃培養では 5日後の検査日に発見された膨張したパックの内容物を培地に植え付けても生育しない
- 培地上に生えたコロニーを見るとバチルスサブチリスの単相ではないか と微生物担当は言う

ラインのどの部位を どのように 優先的にチェックするか