

# 琉球大学学術リポジトリ

## レサズリンテストを中心とする生乳の細菌学的検査(畜産学科)

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学農学部 公開日: 2008-02-14 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 日越, 博信, 大城, 盛徳, 赤嶺, 辰雄, 田港, 朝明, Higoshi, Hironobu, Oshiro, Seitoku, Akamine, Tatsuo, Taminato, Tomoaki メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12000/4254">http://hdl.handle.net/20.500.12000/4254</a>

# レサズリンテストを中心とする生乳の細菌学的検査\*

日越博信\*\* 大城盛徳\*\* 赤嶺辰雄\*\*  
田港朝明\*\*

---

Hironobu HIGOSHI, Seitoku ŌSHIRO, Tatsuo AKAMINE and Tomoaki TAMINATO : Bacteriological examination of raw milk particular reference to resazurin test

---

## I 緒 言

沖縄県における牛乳消費量は、昭和49年で全国平均の約1/3、九州地区の平均でも1/2以下であるとはいえ、年々著しく増加している。しかし、牛乳の需要に対する生乳の供給量は約1/3であり、生乳の絶対量が不足している。これに対処するために、沖縄県農林水産部では、乳用牛飼養頭数ならびに生乳生産量の増大にも力を入れており、沖縄の酪農は今後伸びるものと期待されている。

他方、生乳の細菌学的品質については、他府県では早くから問題にされ、現在かなり改善されてきた。沖縄のような高温多湿の環境においては、生乳の細菌学的品質は特に重要視されなければならないと思われる。しかし、本県における生乳の細菌学的品質に関する調査、研究報告はみられない。従って、酪農家に対して搾乳時、またはその後の生乳の取扱い、冷却、細菌による汚染防止方法等、衛生的な指導はほとんど行なわれていない状態である。

一方、わが国の乳等の成分規格（食品衛生法）では、生乳中の細菌数推定はブリード法で行なわれることになっている。しかし、本法は手技にやや熟練を要するため、これに代り得る方法として近年レサズリンテストが行なわれつつある。

著者らは、本県における生乳の細菌による汚染状況を明らかにする目的で、まずミルクカー使用酪農家を選定し、それらの工場持込み生乳について調査を行なった。今回は、夏季および秋季試料について、レサズリンテストを行ない、次いでブリード法による総菌数、細胞数、5°、20°および35°C培養による生菌数、大腸菌群数等を測定し、レサズリンテストの成績とそれぞれの菌数との関係を検討したので、得られた成績を報告する。

## II 実験材料および方法

### 1 調査対象酪農家と試料の採取方法

調査対象の酪農家は、ミルクカーを使用している沖縄県南部の具志頭村の8戸、同南部大里、玉城、南

---

\* 本論文の要旨は第27回西日本畜産学会で報告した

\*\* 琉球大学農学部畜産学科

琉球大学農学部学術報告 24 : 487~496 (1977)

風原, 西原の4か村にまたがる一搬入路線にある7戸, 計15戸である。

試料は, 夏季(1976年7月~8月)および秋季(同年11月~12月)に, 各酪農家から那覇市内の某乳業工場に輸送缶で持込まれた生乳を, 各酪農家の合乳として滅菌サンプラーを用いて約200 ml ずつ, 1週ごとに4回採取した。得られた試料数は, 夏季および秋季ともに各60である。採取した試料は, 5°C以下のアイスボックスに入れて実験室に持帰り, 直ちに試験に供した。

## 2 レサズリンテストの方法

レサズリンテスト(以下RTと略記)は, 全国乳質改善協会の採用した方法<sup>2)</sup>に従って行なったが, レサズリンは和光純薬のラクテスターA錠を用いた。色調の判定は, 37°Cの恒温水槽で30分, 1時間, 2時間培養後にそれぞれ取り出し, レサズリン還元試験用標準色調表に従った。なお, 成績では1時間の値を採用した。

## 3 総菌数および細胞数の測定方法

測定は食品衛生検査指針<sup>3)</sup>のブリード法を用いて行なった。なお, 総菌数は個体法で表わした。

## 4 生菌数および大腸菌群数の測定方法

試料の調整方法, 生菌数および大腸菌群数の測定法は, 食品衛生検査指針<sup>3)</sup>に従った。

生菌数は, 標準寒天培地“栄研”を用い, 低温細菌数には5°C 10日培養を, 中温細菌数には35°C 2日培養を, さらに20°C 4日培養法<sup>1)</sup>をも採用して測定した。

大腸菌群数は, デスオキシコーレイト培地“栄研”を用い, 35°C 24時間培養後に測定した。

# III 実験成績

## 1 RTの成績

検査した夏季60試料および秋季60試料についてのRTの成績は, 表1に示した。

Table 1. Distribution of classes by resazurin test of raw milk samples from milk processing plant

Season	No. of samples examined	Class by resazurin test (One hour)					
		0	1	2	3	4	5
		No. of samples (%)					
Summer	60	0	1(1.7)	18(30.0)	22(36.7)	9(15.0)	10(16.7)
Autumn	60	0	13(21.7)	23(38.3)	16(26.7)	5(8.3)	3(5.0)
Total	120	0	14(11.7)	41(34.2)	38(31.7)	14(11.7)	13(10.8)

RTでは, 夏季および秋季試料ともに, 1~5級に分布したが, 夏季では3級以上の試料が多かったのに対し, 秋季では2級以下の試料が多く, 秋季のほうで良い成績を示した。また, レサズリンが還元されない試料(0級)は, 両季節ともみられなかった。

## 2 総菌数および細胞数

総菌数および細胞数の出現状況は、季節別にそれぞれ表2および表3に示した。

Table 2. Direct microscopic counts of raw milk samples from milk processing plant

Season	No. of samples examined	Direct microscopic count/ml ( $\times 10^4$ )			
		< 100	101-400	401-1000	> 1001
No. of samples (%)					
Summer	60	0	12(20.0)	14(23.3)	34(56.7)
Autumn	60	14(23.3)	21(35.0)	7(11.7)	18(30.0)
Total	120	14(11.7)	33(27.5)	21(17.5)	52(43.3)

Table 3. Udder cell counts of raw milk samples from milk processing plant

Season	No. of samples examined	Udder cell count/ml ( $\times 10^4$ )				
		< 5	5.1-10	11-25	26-50	> 51
No. of samples (%)						
Summer	60	28(46.7)	11(18.3)	8(13.3)	9(15.0)	4(6.7)
Autumn	60	34(56.7)	3(5.0)	10(16.7)	5(8.7)	7(11.7)
Total	120	62(51.7)	14(11.7)	18(15.0)	14(11.7)	11(9.2)

総菌数は、表2に示したように、全体では1,001万以上の試料が半数近くもあり、総菌数の著しく多い試料が多かった。また、食品衛生法の規格(400万/ml以下)に合格したのは、半数以下であり、憂慮すべき成績であった。

季節別にみると、夏季試料では100万以下の例がなく、逆に1,001万以上の例が過半数を占めた。規格に合格したのは12試料(20%)のみであった。一方、秋季試料では規格に合格したものが過半数に達し、夏季に比較して良くなったが、なお1,001万以上の試料が30%もあった。

細胞数の成績については、表3に示されるように、夏季および秋季ともに多くの試料が10万以下であった。しかし、少数ではあったが、工場持込み時の合乳試料でも、51万以上の例がみられた。

## 3 生菌数および大腸菌群数

3種培養温度における生菌数の出現状況および平均菌数(対数)は、表4に示した。

5°C培養の低温細菌数は、夏季試料では $10^3 \sim 10^6$ 、秋季試料では $10^1 \sim 10^5$ の範囲にあったが、両季節とも大多数の試料は $10^3 \sim 10^4$ であった。35°C培養の中温細菌数および20°C培養菌数は、夏季試料では $10^5 \sim 10^7$ 、秋季試料では $10^4 \sim 10^7$ の範囲にあったが、 $10^5 \sim 10^6$ を示した試料が多かった。また、これらの両培養菌数の出現状況は、夏季および秋季ともに、それぞれほぼ同じであった。さらに平均菌数でも両者は、夏季および秋季ともに、それぞれほぼ等しかった。

Table 4. Viable bacterial counts of raw milk samples from milk processing plant at 5°C, 20°C and 35°C incubation

Season	No. of samples examined	Incubation temp. (°C)	Viable bacterial count/ml				Average (Log.)
			< 10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup> - 10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup> - 10 <sup>6</sup>	> 10 <sup>7</sup>	
			No. of samples (%)				
Summer	60	5	0	41 (68.3)	19 (31.7)	0	4.61 ± 0.81
		20	0	0	46 (76.7)	14 (23.3)	6.59 ± 0.52
		35	0	0	44 (73.3)	16 (26.7)	6.62 ± 0.54
Autumn	60	5	16 (26.7)	42 (70.0)	2 (3.3)	0	3.38 ± 1.21
		20	0	1 (1.7)	58 (96.7)	1 (1.7)	5.95 ± 0.54
		35	0	1 (1.7)	58 (96.7)	1 (1.7)	5.99 ± 0.59

季節別の比較では、夏季試料は秋季試料より、培養温度に関係なく生菌数の多いものが多く、平均菌数も多かった。

一方、大腸菌群数については、表5に示したが、夏季試料では10<sup>3</sup>~10<sup>6</sup>、秋季試料では10<sup>1</sup>~10<sup>5</sup>の範囲にあった。また、大腸菌群数も上記生菌数の成績同様、夏季のほうに菌数の多い試料が多かった。

Table 5. Coliform counts of raw milk samples from milk processing plant

Season	No. of samples examined	Coliform count/ml			
		< 10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup> - 10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup> - 10 <sup>6</sup>	> 10 <sup>7</sup>
		No. of samples (%)			
Summer	60	0	34 (56.7)	26 (43.3)	0
Autumn	60	14 (23.3)	36 (60.0)	10 (16.7)	0
Total	120	14 (11.7)	70 (58.3)	36 (30.0)	0

#### 4 RTと総菌数、生菌数あるいは大腸菌群数との関係

RTと総菌数との関係は、夏季および秋季試料を合計して表6に、またRTと3種培養温度の生菌数あるいは大腸菌群数との関係は、季節別にして表7に、それぞれ示した。

表6に示したように、RTと総菌数との関係では、規格の400万を基準にすると、RTで1級を示した14試料すべてと、2級の41試料中29(70.7%)は400万以下であった。RTで3級を示した38試料中34(89.5%)は、逆に400万以上であり、それらの大多数は1,001万以上であった。また4級および5級を示した試料では、すべてが1,001万以上であった。

なお、RTと細胞数との関係は、表示しなかったが、はっきりした傾向を示さなかった。

次に、RTと生菌数あるいは大腸菌群数との関係は、表7に示したように、RTの級が高いほどいずれの菌数も多くなる傾向を示した。しかし、秋季試料における5°C培養菌数および大腸菌群数では、順

位に若干変動がみられた。また、RTの同じ級において、夏季試料は秋季試料に比べて、いずれの菌数も多く出現した。

Table 6. Relationship between resazurin test and direct microscopic counts

Class by resazurin test	No. of samples examined	Direct microscopic count/ml ( $\times 10^4$ )			
		< 100	101 - 400	401 - 1000	> 1001
		No. of samples			
1	14	9	5	0	0
2	41	5	24	12	0
3	38	0	4	9	25
4	14	0	0	0	14
5	13	0	0	0	13
Total	120	14	33	21	52

Table 7. Relationship between resazurin test and viable bacterial counts at three temperatures or coliform counts

Season	Class by resazurin test	No. of samples examined	Viable bacterial count (Log.)/ml			Coliform count(Log.)/ml
			35°C	20°C	5°C	
Summer	1	1	5.54	5.73	4.95	4.36
	2	18	6.08 $\pm$ 0.33	6.12 $\pm$ 0.28	4.36 $\pm$ 0.55	4.11 $\pm$ 0.46
	3	22	6.61 $\pm$ 0.35	6.50 $\pm$ 0.30	4.38 $\pm$ 0.80	4.78 $\pm$ 0.64
	4	9	7.21 $\pm$ 0.25	7.16 $\pm$ 0.26	4.98 $\pm$ 0.73	5.26 $\pm$ 0.44
	5	10	7.15 $\pm$ 0.20	7.17 $\pm$ 0.22	5.16 $\pm$ 0.87	5.85 $\pm$ 0.50
Autumn	1	13	5.37 $\pm$ 0.32	5.45 $\pm$ 0.36	3.51 $\pm$ 0.65	3.73 $\pm$ 1.12
	2	23	5.76 $\pm$ 0.36	5.72 $\pm$ 0.29	3.71 $\pm$ 0.86	3.09 $\pm$ 0.86
	3	16	6.44 $\pm$ 0.35	6.35 $\pm$ 0.40	3.26 $\pm$ 0.82	4.23 $\pm$ 0.92
	4	5	6.67 $\pm$ 0.25	6.53 $\pm$ 0.24	4.34 $\pm$ 0.78	3.94 $\pm$ 0.78
	5	3	6.90 $\pm$ 0.19	6.83 $\pm$ 0.21	4.19 $\pm$ 0.25	4.91 $\pm$ 0.77

##### 5 酪農家別の総菌数の出現状況

表8に示したように、夏季では多くの酪農家が、4回検査したうち4回とも400万以上の生乳を出荷していた。しかし、バルククーラー使用酪農家のNo.2および8は、4回とも400万以下であった。なお、No.4の酪農家は秋季の調査時からバルククーラーを使用した。一方、4回中4回とも1,001万以

上の生乳を出荷した酪農家が5戸あったが、No 3では毎回1億を越していた。

秋季では、半数の酪農家が4回中4回とも400万以下であり、バルククーラー使用酪農家以外でも、夏季に比較して著しく良くなった。しかし、4回とも総菌数1,001万以上の生乳を出荷した酪農家が2戸あった。

なお、ここでは生菌数および大腸菌群数については表示しなかったが、総菌数と同様に各酪農家とも秋季には菌数の少ない生乳を出荷していた。また、バルククーラー使用酪農家の生乳では、他酪農家の生乳に比べて、20°および35°C培養菌数が少ない傾向を示した。しかし、5°C培養の低温細菌数は逆に多い傾向を示し、特に秋季においてこの傾向が強かった。

Table 8. Incidence of direct microscopic count of raw milk samples from milk processing plant, according to farms

Farm No.	Direct microscopic count/ml ( $\times 10^4$ )							
	Summer				Autumn			
	<100	101-400	401-1000	>1001	<100	101-400	401-1000	>1001
	No. of samples							
1	•	•	3	1	•	2	2	•
2*	•	4	•	•	2	2	•	•
3	•	•	•	4	•	•	•	4
4*	•	•	2	2	4	•	•	•
5	•	•	•	4	•	•	1	3
6	•	•	•	4	•	1	1	2
7	•	•	1	3	•	2	•	2
8*	•	4	•	•	3	1	•	•
9	•	•	1	3	1	1	2	•
10	•	•	1	3	•	•	•	4
11	•	•	•	4	1	3	•	•
12	•	1	2	1	•	4	•	•
13	•	3	1	•	•	4	•	•
14	•	•	•	4	•	•	1	3
15	•	•	3	1	3	1	•	•

\* Bulk cooler-using farms

#### IV 考 察

今回の調査試料数は少数であるため、この成績のみから沖縄における生乳の細菌学的品質を論じるのは早計かもしれないが、乳質の概要は得られたと思われる。

今回の成績では、他府県の生乳に比較して、低温細菌数を除く生菌数および総菌数、特に後者菌数の

著しく多い生乳が多かった。最近（昭和49年）の東京都あるいは北海道における調査成績<sup>5)</sup>では、総菌数が1,000万を越す生乳はほとんどなく、生乳の99～86%は400万以下である。また、同年の宮城県における成績<sup>10)</sup>でも、60～75%の生乳は400万以下であった。沖縄県における今回の成績は、すでに記述したように、1,000万以上の生乳が多く、特に夏季ではそのような生乳が過半数を占めた。また、400万以下の生乳は、夏季で20%、秋季でも58%であった。

現行の食品衛生法では、総菌数が400万以上の生乳は、乳および乳製品（加糖れん乳を除く）の製造に供してはならないとされている。この規格に照らし合わせると、沖縄の生乳供給量は著しく減少する結果になり、深刻な問題である。他方、生乳中の生菌数および大腸菌群数に関する規格はないが、総菌数は生菌数（主に中温細菌数）の数倍以上というのが通常である。総菌数400万に相当する生菌数の基準を $10^6/ml$ （100万）とすると、これ以上を示した試料数の出現は、日越が北海道で調査した成績<sup>1)</sup>に比べて多かった。乳および乳製品工場における殺菌機の開発が進み、殺菌効率が非常に良くなったとはいえ、100%ではない。生乳中の細菌数が多いとき、殺菌後の製品にも残存する場合がありますとする報告<sup>4)</sup>もあることから、細菌の汚染を防止することはもち論であるが、汚染細菌の増殖を抑制する方法も講じなければならない。

一方、工場持ち込み時生乳では、低温細菌数と中温細菌数とがほぼ等しいか、あるいは非常に近い数値を示すとの報告<sup>1,7)</sup>がある。しかし、今回の著者らの成績では、低温細菌数に比べて中温細菌数はほとんどすべての生乳ではるかに多かった。これらの相違は、沖縄の高温環境によるのか、または搾乳後の生乳の冷却、取扱い方法等に問題があるのかは、今後検討する必要がある。

生乳への細菌汚染は、搾乳所における悪い衛生管理<sup>9)</sup>、そのような状態での搾乳<sup>12)</sup>、機械・器具類の洗浄不備または未殺菌<sup>11)</sup>、等々によって起る。今回は、これらに関して調査を行っていないため、菌数の多い原因について具体的に指摘できない。しかし、工場持ち込み時の輸送缶には温かいものがあり、生乳の冷却不十分または輸送方法の不備が指摘される。中西<sup>6)</sup>は、早急な乳質改善の困難な現状では、生乳の冷却を $1.5^{\circ}C$ まで下げることが提唱している。

沖縄では、年平均気温が $22^{\circ}C$ ～ $24^{\circ}C$ と高い。このような温度では中温細菌ばかりか低温細菌も速やかに増殖し得る。従って、沖縄では生乳中に存在する細菌の増殖を抑制するために、十分な冷却が特に重要である。このことは、バルククーラー使用酪農家の生乳が総菌数、 $20^{\circ}$ および $35^{\circ}C$ 培養菌数の少ない傾向を示したこと、また外気温の低くなった秋季で菌数が少なかったこと、などからもうかがえる。しかし、すでにThomasら<sup>13)</sup>によって指摘されたように、バルククーラー使用酪農家の生乳では、低温細菌数が多く出現する傾向を示した。これは、バルククーラーの設置を進めている沖縄では、衛生的な管理に十分留意する必要があることを示している。

最後に、RTと総菌数あるいは生菌数との関係については、Thomas and Thomas<sup>15)</sup>の総説からもうかがわれるように、多くの報告があり、それらの報告と著者らの成績とは、RTの級が高くなるほど菌数も増加した点で一致した。また、細胞数もRTに影響することが示唆されている<sup>15)</sup>が、著者らの成績でも総菌数400万以下で、RT3級および4級を示した例に、細胞数の著しく多いものがあった。これも細胞数がRTに影響した例と思われるが、試料数が少ないため、今回はこれらの関係を詳述しなかった。大浦、笹野<sup>8)</sup>はRTと総菌数との関係から、生乳を特別乳、一等乳、格外乳に分ける規格案を提唱した。著者らの検査した試料では、RTで1級のすべてと、2級の大多数が彼らの一等乳に、そして3～5級を示した試料が格外乳に格付される。しかし、今回RTで0級を示した例がなく、彼らの特別乳に該当するものがなかった。彼らの基準はほぼ妥当と思われるが、著者らも沖縄の生乳について、RTによる格付の基準を作成したいと考えている。そのためには、調査対象酪農家数を増やし、多くの試料について検査する必要がある。



## V 要 約

著者らは、沖縄における生乳の細菌による汚染状況を知る目的で、まず本島南部のミルカー使用酪農家15戸を選び、それらの工場持込み生乳について、夏季(1976年7~8月)と秋季(同年11~12月)に調査を行なった。

1 夏季60試料, 秋季60試料のRTでは1~5級に分布した。しかし, 夏季試料では3級以上が多かったのに対し, 秋季試料では2級以下が多かった。

2 総菌数では, 夏季の全試料が100万/ml以上であり, 食品衛生法の規格(400万/ml以下)に合格したのは20%のみで, 秋季試料でも58%が合格したにすぎなかった。一方, 1,001万を越えた試料が, 夏季では過半数を占め, 秋季では30%あった。

3 生菌数は, 20°および35°C培養では夏季 $10^5 \sim 10^7$ /ml, 秋季 $10^4 \sim 10^7$ , 5°C培養では夏季 $10^3 \sim 10^6$ , 秋季 $10^1 \sim 10^5$ の範囲にあった。秋季試料の生菌数は, 夏季試料のそれに比べて, 培養温度に関係なく少なかった。

4 大腸菌群数は, 夏季 $10^3 \sim 10^6$ /ml, 秋季 $10^1 \sim 10^5$ の範囲にあり, 秋季において菌数の少ない試料が多かった。

5 RTの級と総菌数あるいは生菌数との関係では, 級が高くなるほどいずれの菌数も増加した。なお, RTで1級の全試料と2級の大多数は, 総菌数400万以下であった。

6 今回の調査対象酪農家のうち3戸は, バルククーラーを使用していた。これら酪農家の生乳では, 他酪農家の生乳より総菌数, 20°および35°C培養菌数が少なく, 5°C培養菌数が多くなる傾向を示した。

試料の採取にご協力いただいた乳業会社および酪農家の方々に感謝する。

## 参 考 文 献

1. 日越博信, 浜田輔一 1976 工場持込時生乳における低温細菌群, 食衛誌, 17: 34~40
2. 北海道酪農検査所編 1972 生乳取扱技術必携, p131~136, 札幌市, 北海道酪農検査所
3. 厚生省環境衛生局監修 1973 食品衛生検査指針 I p87~107, 東京, 日本食品衛生協会
4. 松井武夫, 飯田朋子, 佐藤富雄, 笠井金盛 1954 市乳製造工程中における大腸菌群の汚染源について, 食品衛生研究, 4(6): 61~67
5. 中江利孝 1976 微生物学的見地からみた原料乳及び市乳の諸問題, 酪農科学・食品の研究, 25: 233~240
6. 中西武雄 1970 バルク時代の乳質保善, 酪農事情, 30(6): 34~37
7. 小川益男 1968 牛乳の低温細菌に関する衛生学的研究, 東京農工大農学部学術報告, 11: 1~88
8. 大浦義教, 笹野 貢 1973 原料牛乳の検査規格に関する一考察, 畜産の研究, 27: 1193~1197
9. Overcast, W. W. 1968 Psychrophilic microorganisms and keeping quality of milk and its products, J. Dairy Sci., 51: 1336~1338
10. 高橋正義, 古山清一, 板橋一男, 荒井威吉, 大槻昌夫, 中西武雄 1975 昭和48年度および昭和49年度の宮城県産原料乳の細菌数の検査成績, 酪農科学・食品の研究, 34: 145~149
11. Thomas, S. B. 1958 Psychrophilic microorganisms in milk and dairy product,

Dairy Sci. Abstr., 20 : 355 ~ 370

12. ————— and Druce, R. G. 1969 Psychrotrophic bacteria in refrigerated pasteurized milk, Dairy Inds., 34 : 351 ~ 355
13. —————, ————— and Jones, M. 1971 Influence of production conditions on bacteriological quality of refrigerated farm bulk tank milk, J. appl. Bact., 34 : 659 ~ 677
14. ————— and Thomas B. F. 1973 Psychrotrophic bacteria in refrigerated bulk-collected raw milk, Dairy Inds., 38 : 11 ~ 15
15. —————, ————— 1974 The development of dye reduction tests for the bacteriological grading of raw milk - Part 2, Resazurin test, Dairy Inds., 39 : 31 ~ 34

### Summary

For the purpose of finding the status of bacterial contamination of raw milk in Okinawa, Japan, the authors made bacteriological examinations of the raw milk to be delivered to a milk processing plant by 15 selected milker-using farms located in southern Okinawa Island in summer (July-August, 1976) and autumn (November-December, 1976).

1. The resazurin tests on 60 summer and 60 autumn samples were distributed in classes 1 to 5. However, the greater part of the tests on the summer samples was distributed in class 3 and higher classes, while the greater part of the tests on the autumn samples was distributed to not higher than class 2.

2. The direct microscopic counts (individual count) of all the summer samples were not less than 1,000,000/ml, only 20% of the samples meeting the standard of the Japanese Food Sanitation Law (not more than 4,000,000/ml), and even of the autumn samples, only 58% met the standard. On the other hand, more than half of the summer samples exceeded the direct microscopic count of 10,000,000/ml, and 30% of the autumn samples exceeded the count.

3. The viable bacterial counts of the summer samples by incubation at 20°C for 4 days and 35°C for 2 days were  $10^5$  -  $10^7$ /ml, and those of the autumn samples,  $10^4$  -  $10^7$ /ml. The psychrotrophic counts of the summer samples by incubation at 5°C for 10 days were  $10^3$  -  $10^6$ /ml, and those of the autumn samples,  $10^1$  -  $10^5$ /ml. Thus, the viable bacterial counts of the autumn samples were less, irrespective of the incubation temperature, than those of the summer samples.

4. The coliform counts of the summer samples were  $10^3$  -  $10^6$ /ml, and those of the autumn samples,  $10^1$  -  $10^5$ /ml, thus, the autumn samples included more samples with less coliform counts.

5. There was such a relationship between the resazurin tests and the direct microscopic or viable bacterial counts that the higher the class, the greater was the bacterial count. All the samples of class 1 by the resazurin test and the majority of the samples of class 2 by the same test were below the direct microscopic count of 4,000,000/ml.

---

6. Of the farms selected as the subjects of the present study, 3 used the Bulk cooler. The raw milk samples from these farms were less in direct microscopic count, viable bacterial count at 20°C and that 35°C than the samples from the other farms, while the former tended to be greater in psychrotrophic count.