

2003/192

厚生労働科学研究費補助金

食品安全確保研究事業

容器包装詰低酸性食品のボツリヌス食中毒に対するリスク評価

平成15年度 総括 分担研究報告書

主任研究者 小熊 惠二

平成15年(2004)年3月

容器包装詰低酸性食品のボツリヌス食中毒に対するリスク評価

主任研究者 小熊 恵二 岡山大学大学院医歯学総合研究科・教授

研究要旨 容器包装詰低酸性食品によるボツリヌス中毒のリスクを評価するため、本年は加熱処理が 100℃以下の製品の検討を行った。全国的に販売されているものと、北海道、中国 四国、九州で特産品として販売されているもの計 627 検体を調べたところ、105 検体が汚染されていた。内、*Bacillus* には 37 検体が、*Clostridia* には 10 検体が汚染されていた。また、調味料（野菜エキス）8 検体、東南アジア等から輸入されている香辛料 100 検体を調べたところ、前者では 6 検体が汚染されており *Clostridia* も 2 検体から分離された。香辛料の汚染も高率であり、*B. cereus* や *C. perfringens* による汚染の他、インド産香辛料 1 検体からはボツリヌス D 型菌が、1 検体の培養液からはボツリヌス D 型毒素も証明された。その他、A 型菌や B 型菌の菌株による性状の比較、異なる包装容器中の食品における芽胞の発芽 増殖性の差なども検討した。さらには、B 型毒素を簡単に検査できるイムノクロマト法も開発した。

分担研究者

小崎俊司（大阪府立大学大学院農学生命科学研究科 教授）、春日文子（国立医薬品食品衛生研究所安全情報部第 2 室 室長）、武士甲一（北海道立衛生研究所食品科学部・主任研究員）、甲斐明美（東京都健康安全研究センター・専門副参事）、林賢一（滋賀県立衛生環境センター微生物担当 参事）、堀川和美（福岡県保健環境研究所保健科学部病理細菌科 専門研究員）、浅尾努（大阪府立公衆衛生研究所感染症部細菌課・主任研究員）、石村勝之（広島市衛生研究所生物科学部 主任技師）、駒木勝（（社）日本缶詰協会研究所第 2 研究室 室長）、

味料の調査を行った。また昨年は、A 型 4 株、B 型 1 株を用いて芽胞の添加実験を行ったが、菌株による中毒の起こり方の違いなどを検討するため、これらにさらに数株加え、その芽胞の耐熱性や毒素産生などの性状の比較検討を行った。また、*C. sporogenes* PA3679 株がボツリヌス菌の代用として添加実験に用いられるかを検討した。さらには、包装容器の差によりボツリヌス芽胞の発芽 増殖性が異なるのではないかと推察し、この点に関する実験や、毒素を簡単に検出できるキットの開発を開始した。

A 研究目的

昨年は容器包装詰低酸性食品のうち、ガス置換後、100℃以上の加熱処理を行い製造された食品を中心に調査を行った。本年はより危険な加熱不十分の商品や、東南アジア等から輸入されている香辛料や調

B 研究方法

1 供試検体

全国的に販売されているもの、あるいは地方でのみ販売されているものを購入して用いた。香辛料は異なる 2 社の業者により輸入された未殺菌原形、未殺菌粉末、殺菌粉末など形状の異なるものを購入した。

2 汚染調査

各検体の pH、水分活性を測定した後、図 1 に示したような方法で一般細菌、好気性有芽胞菌、*clostridia* による汚染を調査した。*clostridia* の場合はボツリヌス菌かどうかをマウスを用いた毒性試験および中和試験により決定した。また、各検体が少量のボツリヌス菌に汚染されている場合を考慮し、検体を Cooked Meat 培地で培養し、トリプノノ処理した後、上記毒性試験を行う系も検討した。

3 イムノクロマト法の開発

関東化学 KK と共同で、簡単に、かつ、迅速に毒素を検出できるイムノクロマト法を開発した。まず小熊らの方法により、ラクトースゲルカラムを用いて B 型神経毒素を精製した。これをホルマリンで不活化後、家兎を免疫し抗神経毒素抗体を得た。この抗体を無毒成分のみを結合したラクトースゲルカラムにかけ、微量に含まれている抗無毒成分抗体を除いた。DEAE カラムにより IgG を精製した後、金コロイドで標識し、イムノクロマトキットを作製した。

4 菌株の性状比較

C botulinum A 型菌 4 株 (62A、974、Renkon、33A)、B 型菌 2 株 (Okra、213B)、および、*C sporogenes* PA3679 株の芽胞の耐熱性 (D 値)、最低増殖温度、毒素産生性などを検討した。また、食品への芽胞の添加実験も行い、その増殖性を比較・検討した。D 値は $10^4 \sim 10^5$ の芽胞数を $80^\circ\text{C} \sim 115^\circ\text{C}$ で適当時間処理することにより得た。増殖および毒素産生性は、PYG 培地 (2% Proteose pepton、0.5% 酵母エキス、0.5% グルコース) 10ml に、各芽胞を 10^4 ほど添加した後、 30°C で培養して調べた。増殖性は OD を測定することにより、毒性はマウスの尾静脈接種法により測定した。ボツリヌス菌とスポロゲネス菌芽胞の添加実験は、 $10^3 \sim 10^2 \text{cfu/g}$ の芽胞を 3 種類の食品に添加した後、 30°C で保存し、その発芽・増殖を観察して行った。

5 異なる容器包装中での増殖性

ガスバリアー性 (酸素透過性) が、それぞれ 0、0.5、95 (ml/m² · 24hrs · atm) の値をもつアルミスタンドパウチ、ヘセーラスタントパウチ、一般構成の平パウチに玄米かゆを加えた後、 116°C 、30 分処理し無菌とした。これにボツリヌス菌芽胞 (A、B 混合) とスポロゲネス菌芽胞を $10^3 \sim 10^4 \text{cfu/g}$ 添加した。 80°C 、20 分加熱処理した後、 30°C に放置し、その後、芽胞の発芽 増殖を調べた。

C 研究結果

1 食品の汚染調査

市販の一般商品計 627 検体を検査したところ、一般細菌、好気性および嫌気性芽胞形成菌による汚染状況は表 1 のようであった。昨年調査した 100°C 以上の加熱処理を受けているものに比較し、当然ながら汚染の割合は高かった。ボツリヌス菌による汚染やボツリヌス毒素の存在が認められたものはなかったが、芽胞形成菌による汚染件数は計 40 であり、*Bacillus* や *Clostridia* に汚染されているものは、それぞれ 37 と 10 検体であった。一部の検体に関しては、菌の同定 (属名の決定) を 16SrRNA の塩基配列を決定することにより行った。本方法は有効であり、多数の異なる属の菌により汚染されている食品が存在することが確認された (詳細は堀川 和美の報告)。加工食品の風味付けに使用されている野菜エキス 5 品種 8 検体 (6 検体の原材料は輸入品)、および、東南アジア等から輸入されている香辛料 100 検体も調査した。野菜エキスでは $50 \sim 60^\circ\text{C}$ 、8 時間、 135°C 、6 秒間などの処理が行われていたが、8 検体中 4 検体は一般細菌と好気性芽胞形成菌に、2 検体はさらに *Clostridia* にも汚染されていた (詳細は林 賢一の報告)。同様に香辛料の汚染率も高かった (69 検体は詳細に検討したが、31 検体はボツリヌス菌による汚染のみを検査した)。輸入業者や材料の形態 (原形または粉末、未殺菌または殺菌)

により汚染率は異なっていたが、殺菌済みと表示されているものからも *C. perfringens* や *C. sporogenes* を含む *Clostridia* が分離された。さらには、インド産の黒胡椒 1 検体からはボツリヌス D 型菌が、また同じくインド産のフェヌグリーヌ 1 検体のクノクドミート培養上清液からは、菌は分離されなかったが、ボツリヌス D 型毒素が証明された（表 2。これらの詳細は甲斐 明美、浅尾 努の報告）。

2 イムノクロマト法の開発

B 型神経毒素に対する抗体（家兎）を金コロイドで標識し、神経毒素検出用のイムノクロマト法を開発した。本方法は、食品中に B 型毒素が 20MLD（minimum lethal dose, マウスの最小致死量）/g 以上存在すると 30 分以内に検出できた（通常は 10 分以内に判定可能）。また、特異性も高く、A、E、F 型毒素とは反応しなかった（詳細は武士 甲一の報告）。

3 菌株の性状

C. botulinum A 型菌 4 株（62A、974、Renkon、33A）B 型菌 2 株（Okra、213B）、および *C. sporogenes* PA3679 株を用い、芽胞の耐熱性（D 値）や最低増殖温度、毒素産生性などを検討した。97A 株の芽胞の耐熱性は他の A 型菌と比較して低いこと、Okra 株と 213 株の芽胞の耐熱性は同程度だが、Okra 株の毒素産生性は高いことが判明した。*Sporogenes* PA3679 株はボツリヌス菌以上に耐熱性があり、また、食品への添加実験においてもボツリヌス菌と同様の増殖性を示したことから、ボツリヌス菌の代わりに使用できることも判明した（詳細は小崎 俊司、駒木 勝、武士 甲一の報告）。

4. 異なった容器包装中での菌の増殖性

酸素透過性の異なる 3 種類の容器に詰められた玄米かゆ中にボツリヌス A 型、B 型および *C. sporogenes* PA3679 の芽胞を接種後、30℃で最長 60 日放置したところ、酸素透過性のまったく無いアルミスタンドパウチのみで菌の増殖、毒素の産生が早期から認め

られた（詳細は駒木 勝の報告）。

D 考察

我が国で販売されている加熱が十分にされていない食品は、クロストリジウムやバチルスを含む多くの細菌に比較的高率に汚染されていた。汚染菌が危険な病原菌でないこと、食品の pH や水分活性（Aw）が低いことなどにより食中毒がおきていないものと推察された。しかし、pH や Aw がボツリヌス菌の増殖可能な範囲にある商品も多く販売されていることから、汚染の機会を少なくし、加熱や保存の条件を検討する必要があると思われる。東南アジアなどから輸入されている香辛料は、高度に汚染されていたが、この割合は輸入業者の異なりによっても差が認められた。これは材料の原産地の異なるによるのか、あるいは、材料の扱い（処理）や流通過程の違いによるのかなど、今後の検討が必要と思われる。インド産の 1 検体からはボツリヌス D 型菌が分離された。また同じくインド産の他の 1 検体の培養液には D 型毒素が検出された。さらには、“殺菌”処理がされている検体からも好気性芽胞形成菌や *Clostridia* が分離された。これらのことから、香辛料はその後の製造及び調理状況によっては危険な場合があることが判明した。同様に調味料の 1 種である「野菜のエキス」も高度に汚染されていた。今後、調味料に関してもさらなる調査を進め、1984 年に発生した「辛子レンコン中毒」のような大惨事か起きないように注意する必要があることが確認された。

同じ A 型菌や B 型菌といっても、芽胞の耐熱性や増殖性などに関して非常に多様性であることが確認されたが、*C. sporogenes* PA3679 株の芽胞の耐熱性は高く、また、増殖性も良いことから、ボツリヌス菌の代わりに添加実験に使用できることが判明した。芽胞や生菌を接種後、30℃に放置した場合、菌が増殖し毒素も産生されるが、芽胞数が増加しない

例があることも確認された。これは、本食品の条件が特殊であり、発芽・増殖はおこるが、その後の芽胞形成には至らないものと推察された（詳細は石村勝之の報告）。今後これらの点の詳細も解明したいと思っている。また、酸素透過性のある容器では、ボツリヌス菌やスポロゲネス菌芽胞の発芽・増殖は認められなかったが、透過性のないアルミスタンドパウチでは増殖したことから、容器の選定も重要であることが判明した。毒素を検出する方法として、今回開発したイムノクロマト法が、簡単・迅速でありながら感度と特異性が非常に高く、実際の中毒例でも使用できることが示唆された。今回は B 型毒素用のみであるので、今後は他の型の毒素の検出キットも開発する予定である。

E 結論

- 1 加熱が十分にされていない容器包装詰食品は、比較的高率に *Bacillus* や *Clostridia* にも汚染されていた。
- 2 調味料や香辛料は高度に汚染されており、香辛料各 1 検体からは、ボツリヌス D 型菌やボツリヌス D 型毒素が検出された。
- 3 ボツリヌス A 型菌 4 株、B 型菌 2 株、スポロゲネス菌 1 株の芽胞の耐熱性や発芽・増殖性などを比較したところ、菌株により明確な差があること、スポロゲネス菌芽胞はボツリヌス菌芽胞の代わりに添加実験に使用できることが判明した。
- 4 酸素透過性の異なる容器により、ボツリヌス菌芽胞の発芽・増殖性は異なっていた。
- 5 B 型神経毒素を簡単に迅速に検出できるイムノクロマト法を開発した。

F 健康危険情報

特になし

G 研究発表

1 発表論文

Fujinaga Y, Inoue K, Watarai S, Sakaguchi Y, Arimitsu H, Lee J, Jin Y, Matsumura T, Kabumoto Y, Watanabe T, Ohyama T, Nishikawa A, Oguma K Molecular characterization of binding subcomponents of *Clostridium botulinum* type C progenitor toxin for intestinal epithelial cells and erythrocytes Microbiol (in press)

Arimitsu H, Lee J, Sakaguchi Y, Hayakawa Y, Hayashi M, Nakaura M, Takai H, Lin SN, Mukamoto M, Murphy T, Oguma K Vaccination with recombinant whole heavy chain fragments of *Clostridium botulinum* type C and D neurotoxins Clin Diagn Lab Immunol (in press)

Inoue K, Sobhany M, Transue TR, Oguma K, Pederson LC, Negishi M Structural analysis by X-ray crystallography and calorimetry of a hemagglutinin component (HA1) of the progenitor toxin from *Clostridium botulinum* Microbiol 149 3361-3370, 2003

Sagane Y, Hasegawa K, Mutoh S, Kouguchi H, Suzuki T, Sunagawa H, Nakagawa T, Kamaguchi A, Okasaki S, Nakayama K, Watanabe T, Oguma K and Ohyama T Molecular characterization of GroES and GroEL homologues from *Clostridium botulinum* J Protein Chem 22 99-108, 2003

Woodward LA, Arimitsu H, Hirst R, Oguma K. Expression of Hc subunits from *Clostridium botulinum* types C and D and their evaluation as candidate vaccine antigens in mice Infect Immun 71 2941-2944, 2003

Arimitsu H, Inoue K, Sakaguchi Y, Lee J, Fujinaga Y, Watanabe T, Ohyama T, Hirst R, and Oguma K Purification of fully activated *Clostridium botulinum* serotype B toxin for treatment of patients with Dystonia Infect Immun 71 1599-1603, 2003

Furuse T, Hasebe S, Ohtsuki H, Oguma K Passive length-tensile properties of extraocular muscles under botulinum toxin type C Jpn J Ophthalmol 47 145-150, 2003

2 学会発表

K. Oguma, H Arimitsu, K Inoue, Y Sakaguchi, J Lee, Y Fujinaga Establishment of a new procedure for purifying fully activated *Clostridium botulinum* type B neurotoxin Clostridia 03 Pathogenesis Woods Hole (2003 4 26-4 30)

K Inoue, M Sobhany, K. Oguma and L C Pedersen and M Negishi Crystal structure of hemagglutinin(HA1) in *C botulinum* type C 16S toxin and its binding to sugar Clostridia 03 Pathogenesis Woods Hole (2003 4 26-4 30)

Y Fujinaga, H Arimitsu, Y Sakaguchi, J Lee, K Inoue, W I Lencer, and K. Oguma Identification of functional subunits of *C botulinum* type C 16S toxin involved in binding to intestinal epithelial cells and erythrocytes Clostridia 03 Pathogenesis Woods Hole (2003 4 26-4 30)

K. Oguma, K Takeshi, C Monma Risk of botulism in low-acid food products and a botulism case caused by one of them 38th Toxic Microorganisms Joint Panel Meeting UNITED STATE-JAPAN COOPERATIVE PROGRAM ON DEVELOPMENT & UTILIZATION OF NATURAL RESOURCES Tokyo (2003 11 11 -12)

小熊恵二 ボツリヌス毒素およびボツリヌス中毒について、第 24 回日本食品微生物学会学術総会（特別講演）（2003 10 2～3）岡山

長谷川仁子, 武藤信吾, 鈴木智典, 相根義昌, 孝口裕一, 渡部俊弘, 砂川紘之, 小熊恵二, 大山徹 ボツリヌス D 型菌 4947 株の GroES および GroEL 様タンパク質の分子特性および遺伝子のプロモーター解析, 第 76 回総会, 熊本, 日本細菌学雑誌, 58 (1) (2003)

萩山桐子, 永浜政博, 山口明雄, 小林敬子, 阪口義彦, 小熊恵二, 櫻井純 ボツリヌス菌 C2 毒素 Component II の細胞への結合, 第 76 回総会, 熊本, 日本細菌学雑誌, 58 (1) (2003)

有満秀幸, 阪口義彦, 李在哲, 林松男, 関鋭, 藤永由佳子, 小熊恵二 リコンビナント神経毒素重鎖 (Hc) を用いたボツリヌスワクチンの効果について, 第 76 回総会, 熊本, 日本細菌学雑誌, 58 (1) (2003)

藤永由佳子, 有満秀幸, 阪口義彦, 李在哲, 小熊

恵二 コレラ毒素やボツリヌス毒素の宿主腸上皮細胞内輸送, 第 76 回総会, 熊本, 日本細菌学雑誌, 58 (1) (2003)

藤永由佳子, Anne Wolf, Chiara Rodighiero, Wayne Lencer, 有満秀幸, 李在哲, 阪口義彦, 小熊恵二 コレラ毒素やボツリヌス毒素の宿主腸上皮細胞内輸送について, 第 50 回毒素シンポジウム 白浜温泉 (和歌山) (2003 7 9～11)

株本祐子, 藤永由佳子, 金英姫, 松村拓大, 李在哲, 阪口義彦, 小熊恵二 ホツリヌス B 型神経毒素複合体の腸管上皮細胞バリア通過機構の解析, 第 56 回日本細菌学会中国 四国支部総会 (2003) 徳島

G 知的財産の出願 登録状況

工業所有権の名称 筋緊張亢進疾患治療剤, 発明者 小熊恵二, 権利者 小熊恵二, 工業所有権の種類 番号 WO03/082315, 出願年月日 平成 15 年 2 月 25 日

表1 一般食品（計 627検体）の汚染状況

汚染菌の種類	汚染検体数	備考（菌数*やバチルスやクロストリジアによる汚染検体数）
A) 一般細菌のみ	48	10~10 ⁸ バチルス 3**
B) 好気性芽胞形成菌のみ	1	10
C) 嫌気性芽胞形成菌のみ	2	
(混合感染)		
D) A+B	44	1~10 ³ クロストリジア 2
E) A+C	0	10~10 ⁴ バチルス 27（うち、セレウス菌 6）
F) B+C	0	
G) A+B+C	10	10~10 ² バチルス 7 クロストリジア 8
計	105	37 10

*g当たりの菌数

**耐熱性が低いものと推察される。

表2 香辛料 (計 69 検体) の汚染状況

汚染菌の種類	汚染検体数	備考 (菌数やバチルスやクロストリジアによる汚染など)
A) 一般細菌のみ	3	$10^1 \sim 10^2$
B) 好気性芽胞形成菌のみ	0	10^1
C) 嫌気性芽胞形成菌のみ	6	3件からウエルシュ菌検出
(混合感染)		
D) A+B	17	A $10^1 \sim 10^7$, B $10^1 \sim 10^7$, 6件からセレウス菌 ($10^1 \sim 10^3$) 検出
E) A+C	0	
F) B+C	2	1件からウエルシュ菌検出
G) A+B+C	32	A $10^1 \sim 10^7$, B $10^1 \sim 10^7$, C $10^1 \sim 10^3$, 1件からポツリヌス菌, 19件からウエルシュ菌, 8件からセレウス菌検出

A, B ≥ 10 , C ≥ 1 を「陽性」として計上

その他、香辛料31検体のポツリヌス菌による汚染のみを検査したが、1検体の培養液中にポツリヌスD型毒素が検出された。

容器包装詰低酸性食品のボツリヌス食中毒に対するリスク評価

容器包装詰低酸性食品および香辛料のボツリヌス菌汚染実態調査

分担研究者 甲斐明美 東京都健康安全研究センター 微生物部
研究協力者 門間千枝 東京都健康安全研究センター 微生物部
柴田幹良 東京都健康安全研究センター 微生物部

研究要旨

気密性を有する容器包装詰低酸性食品によるボツリヌス食中毒の発生防止対策が重要な課題となっている。今年度は、全国に流通している容器包装詰低酸性食品 10 品目 66 検体について、ボツリヌス菌を中心に汚染実態調査を行った。さらに、平成 10~11 年度に当研究所が行った実態調査成績を基礎に、香辛料の詳細なボツリヌス菌汚染実態調査を行った。すなわち、未殺菌原形、未殺菌粉末、殺菌粉末等、形状の異なる香辛料、計 69 検体について汚染実態調査を行った。

容器包装詰低酸性食品 66 検体のいずれからも、ボツリヌス毒素およびボツリヌス菌は検出されなかった。しかし、pH および水分活性(Aw)の値から、ボツリヌス I 群菌の毒素産生可能範囲内にある検体が 34 検体(51.5%)あった。一般生菌数が認められた検体は 18 検体(27.3%)、好気性芽胞菌陽性 19 検体(28.8%)、クロストリノア陽性 2 検体(3.0%)であった。これら陽性であった検体の多くが保存食品であったことから、市販の保存食品は Aw により菌の発育は抑制されているものの、必ずしも十分な加熱がなされていないことが示唆された。

香辛料では、黒胡椒 1 検体(未殺菌原形、原産国インド)から D 型ボツリヌス菌を検出した。香辛料の一般生菌数と好気性芽胞菌数は、いずれも未殺菌原形検体で平均 10^6 cfu/g、未殺菌粉末検体で平均 10^4 cfu/g、殺菌粉末検体で平均 10^1 cfu/g であった。殺菌された粉末の香辛料からもクロストリノアをはじめ多くの菌が検出されたことから、殺菌不十分あるいはその後の二次汚染が疑われた。これらの成績は、香辛料を用いた食品の製造においてボツリヌス菌芽胞が生残した場合、ボツリヌス毒素産生の可能性、あるいはボツリヌス食中毒の危険性のあることを示唆している。

A 研究目的

全国に流通している容器包装詰低酸性食品の内、120℃、4 分間の加熱殺菌処理がなされていない製品についてボツリヌス芽胞汚染実態調査を行う。さらに、容器包装詰低酸性食品がボツリヌス芽胞汚染された場合、その汚染原因として可能性のある香辛料についてもボツリヌス芽胞汚染実態調査を行い、ボツリヌス菌に対するリスク評価を行うための基礎資料を得ることを目的とした。

B 研究方法

1 供試試料

製造業者より購入した容器包装詰低酸性食品(120℃、4 分間の加熱殺菌処理がなされていない製品) 10 品目、1 品目 1~3 ロット、1 ロット 3 検体または 5 検体、計 66 検体について、袋の膨張の有無、pH、Aw、一般生菌数、クロストリノア数、好気性芽胞菌数、*Bacillus cereus* (*B. cereus*)、ボツリヌス毒素、

ボツリヌス菌の検査を行った(写真 1-1, 1-2, 1-3)

さらに、容器包装詰低酸性食品の製造に通常使われる香辛料についてボツリヌス検査を実施した。まず、平成 15 年度に行う調査の資料とするため、平成 10~11 年度に当研究所が実施した香辛料 91 検体および調味料 24 検体の調査成績をまとめた。この成績を基に 69 検体を選び、一般生菌数、クロストリジヤ数、クロストリジヤ、好気性芽胞菌数、*B. cereus*、ウエルシュ菌、ボツリヌス菌の検査を行った(表 1-1, 1-2, 表 2, 写真 2-1, 2-2)

2 理化学試験

1) 水分活性の測定

水分活性は水分活性測定装置 デカゴン アクアラブ CX-3 を用いて測定した

2) pH 測定

pH は、試料に等量の萃留水を加え十分に攪拌後、pH メーター(東亜電波工業製 HM-50V)を用いて測定した

3 培地および試薬等

1) 標準寒天培地

市販の標準寒天培地(栄研化学製)を用いた

2) クロストリジヤ測定用培地

市販のクロストリジヤ測定用培地(日水製薬製)を用いた

3) CW 寒天培地

市販の CW 寒天培地(カナマイシン含有および不含、日水製薬製)を用いた

4) MYP 寒天培地

市販の MYP 寒天培地(日水製薬製)を用いた

5) クノクドミート培地

市販のクノクドミート培地(Difco)に 0.2%ブドウ糖と 0.3%可溶性でんぷんを添加したものをを用いた

6) ゼラチン緩衝液

リン酸 1 水素ナトリウム 4g を精製水 1,000ml に溶解し、pH6.2 に調整後、ゼラチン 2g を加え、121℃,15 分滅菌したものをを用いた

7) ボツリヌス毒素抗血清

ボツリヌス毒素抗血清は千葉県血清研究所から購入したものをを用いた

8) 変法 DS 培地

大谷らの変法 DS 培地(大谷仁己、氏家敦雄 食

品衛生学雑誌 28, 281-285, 1987) を用いた

9) マウス

ddy 系マウス(雌) 約 20g を用いた

4 試験液の調製

1) 容器包装詰低酸性食品の試験原液

供試した容器包装詰め低酸性食品の全量を無菌的にストマンカー用滅菌ポリエチレン袋(栄研器材製、ストマフィルターS タイプ)にとり、等量の滅菌萃留水を加え、ストマンカーで混和し、これを試験原液(検体の 2 倍希釈液)とした

2) 香辛料の試験原液

供試した香辛料 50g を無菌的にストマンカー用滅菌ポリエチレン袋(栄研器材製、ストマフィルターS タイプ)にとり、2~5 倍量の滅菌リン酸緩衝ペプトン水を加えよく混和し、液体部分(上澄み液)を供試した。香辛料の状態によって液体部分が認められない場合、更に滅菌リン酸緩衝ペプトン水を加えよく混和し、液体部分(上澄み液)を供試した。滅菌遠心管に液体部分(上澄み液)を入れ、12,000rpm 20 分冷却遠心後、沈渣を滅菌リン酸緩衝ペプトン水に溶解し、試験原液とした(図 1)

5 汚染指標細菌試験

1) 一般生菌数

前述の試験原液に滅菌リン酸緩衝ペプトン水を、10 倍希釈液になるように加えよく混和した。さらに、これを元に滅菌リン酸緩衝ペプトンで 10 倍段階希釈し、各試料液を調製した。これらの各 1ml を 2 枚のペトリ皿にとり、標準寒天培地 15~20ml を加えよく混和後、平板に固化した。さらに同培地を重層し、固化後、37℃, 48 時間培養し、出現した集落数を計数し一般生菌数を算出した

2) クロストリジヤ

一般生菌数の測定時に調製した試料液を用いて、クロストリジヤ数を測定した。すなわち、滅菌アナエロビク・パウチのそれぞれに、加熱溶解し、55℃に保温しておいたクロストリジヤ寒天培地 15ml をとり、試料 10ml を加え、よく混和した後、平板に固化した。各希釈段階に 2 枚のアナエロビクパウチを用い、37℃, 1~7 日間培養し、出現した黒色集落をクロストリジヤとして計測した

増菌培養は、クノクドミート培地で行った。クノ

クドミート培地 4 本に試験原液を入れ、2 本は 65℃20 分加熱後冷却、残り 2 本は加熱処理を行わずに 30℃で 1 週間嫌気培養した。培養後、12,000rpm 10 分間冷却遠心後分離し、沈渣を CW 寒天培地に分離し、2～3 日培養後発育した集落の内、嫌气的条件で発育 (+)、好气的条件で発育 (-) および芽胞形成の確認を行い、クロストリニアと判定した。

更に詳細な同定は、「嫌気性菌の分離と同定法」(日本細菌学会教育委員会編、(株) 菜根出版) に従い、運動性、インドール産生、硝酸塩還元、レンチナーゼ産生、リパーゼ産生、ゼラチン液化、肉片の消化、牛乳の凝固、消化、糖発酵(果糖、ブドウ糖、乳糖、マルトース、マンニト)、エスクリン加水分解等を調べて行った。

3) 好気性芽胞菌数の測定

一般生菌数の測定時に調製した試料液を 65℃20 分加熱後冷却して供試した。これらの各 1ml を 2 枚のペトリ皿にとり、標準寒天培地 15～20ml を加えよく混和後、平板に固化した。さらに同培地を重ねし、固化後、37℃、48 時間培養し、出現した集落数を計数し好気性芽胞菌数を算出した。

4) *B. cereus* 菌数の測定

一般生菌数の測定時に調製した試料液を MYP 寒天培地に 0.1ml 塗抹し、37℃、24 時間培養後、出現した *B. cereus* 菌数を測定した。

5) ウエルシュ菌

直接培養は、一般生菌数の測定時に調製した試料液を CW 寒天培地に 0.1ml 塗抹し、37℃、24 時間嫌気培養し、ウエルシュ菌を調べた。

増菌培養は、クノクドミート培地で行った。クノクドミート培地 4 本に試験液を入れ、2 本は 65℃20 分加熱後冷却し、2 本は加熱処理を行わずに 30℃で 1 週間嫌気培養した。培養後、上清を 12,000rpm 10 分間冷却遠心して得られた沈渣を CW 寒天培地に分離し 1 晩培養後に発育したウエルシュ菌様集落について、 α 抗毒素濾紙(日水製菓)を用いてレンチナーゼ反応抑制を確認し、ウエルシュ菌と同定した。

エンテロトキシン産生性試験は、1 検体につきウエルシュ菌 3 株を変法 DS 培地に接種し、約 20 時間嫌気培養後、3,000rpm 20 分間遠心した上清について、ウエルシュ菌エンテロトキシン検出用キント(デンカ生研)を用いて、エンテロトキシン産生性

を調べた。

6 ボツリヌス毒素の検出および増菌培養によるボツリヌス菌検査

1) 食品中の毒素検出試験

試料原液は 12,000rpm 10 分間冷却遠心後分離し、上清をゼラチン緩衝液で 2 倍希釈し、その 0.5ml をマウス 2 匹にそれぞれ腹腔内接種した。マウスの生死は 7 日間観察した。

2) 増菌培養によるボツリヌス菌検査

試験原液をクノクドミート培地 2 本に接種した。その内 1 本は未処理のまま、もう 1 本は 65℃20 分の加熱処理を行った後、30℃で 1 週間嫌気培養した。培養後、上清を 12,000rpm 4℃で 10 分間遠心後分離し、上清をゼラチン緩衝液で 2 倍希釈し、0.5ml ずつ 2 匹のマウス腹腔内に接種した。マウスの生死は 7 日間観察した。

3) ボツリヌス毒素型別試験

ボツリヌス毒素試験の結果、ボツリヌス特有の症状を示してマウスが死亡した場合は抗 A, B, C1, D, E, F, G 型の各抗毒素を用いて中和試験を行い毒素型の確認を行った。同時に、加熱処理(100℃10 分)によるボツリヌス毒素の失活を確認した。なお、試料はゼラチン緩衝液で、血清は滅菌生理食塩水で 2 単位になるように希釈して用いた。

7 倫理面への配慮 試験操作上の留意点

使用したマウスには、できる限り苦痛を与えぬよう配慮し、実験を行った。ボツリヌス菌の取り扱い、移動、試験操作および保管等は、東京都健康安全研究センター安全管理規程に基づいて、専用の実験室で実施した。使用した実験器具は、実験後すみやかにオートクレーブ(121℃、20 分間)した後、廃棄した。

C 結果

1 容器包装詰低酸性食品のボツリヌス汚染調査成績

10 品目 66 検体の検査成績を表 3-1, 3-2 に示した。

1) 袋の膨張

袋の膨張の認められた検体はなかった。

2) pH および Aw

検査した 66 検体のすべてが pH4.6 以上であり、Aw0.94 以上のものが 34 検体 (51.5%) あった

同一品目検体で、同一ロットもしくは同一賞味期限内でありながら、Aw が「0.94 以上」と「0.94 未満」に分かれた食品があった。天日干したくわん (B) では、3 検体中 1 件が Aw0.95、2 件が Aw0.93、いわし甘露煮では、7/31 製造の 5 検体は Aw0.89~0.92、8/6 製造品では 4 検体が Aw0.91~0.93、1 検体が Aw0.94、8/12 製造の 5 検体では Aw0.91~0.92 であった

3) 一般生菌数

一般生菌数では、 1.0×10^1 cfu/g 以上の食品は、66 検体中 18 件 (27.3%) であった。その内訳は、Aw0.94 以上の食品 34 検体中 2 件 (5.9%)、Aw0.94 未満の食品 32 検体中 16 件 (50%) であった。菌数は 1.0×10^1 ~ 2.1×10^3 であり、多くが保存食品であった

4) クロストリジア

クロストリジアが認められた検体は、天日干したくわん (B) 3 検体中 2 件 (3.0%) のみであった。クロストリジア数はいずれも 1.0×10^1 cfu/g であった

5) 好気性芽胞菌

1.0×10^1 cfu/g 以上の好気性芽胞菌が認められた検体は、66 検体中 19 件 (28.8%) であった。その内訳は Aw0.94 以上の食品 34 検体中 3 件 (8.8%)、Aw0.94 未満の食品 32 検体中 16 件 (50%) で、菌数はいずれも 1.0×10^1 cfu/g 以上であった。好気性芽胞菌の成績は一般生菌数の成績と同様の傾向であった

6) *B. cereus*

B. cereus が認められた検体は、ほうれん草汁 3 検体中 3 件、しいたけ昆布 3 検体中 3 件の計 6 件であった。その菌数は、ほうれん草汁では $1.4 \sim 2.1 \times 10^2$ cfu/g、しいたけ昆布では $3.0 \sim 8.0 \times 10^1$ cfu/g であった

7) ボツリヌス毒素およびボツリヌス菌

ボツリヌス毒素およびボツリヌス菌の検出された検体はなかった

2 香辛料および調味料のボツリヌス菌汚染調査(平成 10~11 年度)

平成 10~11 年度に当研究所が実施した香辛料 91 検体および調味料 24 検体の汚染実態調査の成績を表 4、表 5 にまとめた

1) 香辛料

ボツリヌス菌は検出されなかったが、ボツリヌス菌の類似菌であるクロストリジアが 91 検体中 37 件 (41.8%) から検出された

クロストリジア陽性数は、香辛料輸入業者により大きな差が認められた。すなわち、輸入業者 A の製品では 39 検体中 24 件 (61.5%)、輸入業者 C では 20 検体中 14 件 (41.8%) が陽性であったが、輸入業者 B では 32 検体すべて陰性であった (表 4)

2) 調味料

調味料 24 検体中 1 件 (4.2%) から D 型ボツリヌス菌が検出された。陽性食品は、瓶詰めのカレーペースト (原産国インド) で、食品中のボツリヌス毒素は陰性、pH 7、Aw0.95 であった

また、調味料 24 検体中 6 件 (25.0%) からクロストリジアが検出された (表 5)

3 香辛料のボツリヌス菌汚染調査

香辛料のボツリヌス試験結果を表 6、表 7、図 2 に示した。なお、ボツリヌス菌検査の一部については現在継続中である

1) 一般生菌数

検体ごとにばらつきがあるが、取扱業者および殺菌の有無によりある程度の傾向が認められた (表 6、図 2)

取り扱い業者 D の未殺菌原形検体 14 検体の一般生菌数は、 $3.8 \times 10^1 \sim 1.6 \times 10^7$ cfu/g、黒胡椒 (原産国マレーシア) およびターメリック (原産国インド) の 2 検体が 10^7 以上、50% にあたる 7 検体が 10^5 以上で平均 2.6×10^6 cfu/g であった。未殺菌粉末 11 検体では、 $5.5 \times 10^1 \sim 3.6 \times 10^5$ cfu/g、平均 6.2×10^4 cfu/g であった。殺菌粉末 12 検体では、10 未満/g (3 件、25.0%) ~ 6.3×10^2 であった

取り扱い業者 E の未殺菌粉末 2 検体は、 1.4×10^2 と 8.3×10^3 cfu/g であった。殺菌粉末 30 検体では、10 未満/g (15 件、50.0%) ~ 8.3×10^2 cfu/g であった

2) クロストリジア

クロストリジアは取り扱い業者 D の未殺菌原形 14 検体中 12 件 (85.7%)、未殺菌粉末 11 検体中 9 件 (81.8%)、殺菌粉末 12 検体中 3 件 (25.0%)、取り扱い業者 E の未殺菌粉末 2 検体中 1 件 (50.0%)、殺菌粉末 30 検体中 17 件 (56.7%) から検出された (表 7)。さらに、取り扱い業者 D の未殺菌原形 7

検体、未殺菌粉末 4 検体、取り扱い業者 E の殺菌粉末 2 検体から検出されたクロストリジアは、*Clostridium sprogenes* (*C sprogenes*) と推定された。また、殺菌粉末 1 検体（取り扱い業者 E）から *Clostridium novyi* type A と推定されるクロストリジアが検出された。

クロストリジア数も一般生菌数と同様の傾向が認められた(表 6, 図 2)

取り扱い業者 D の未殺菌原形検体 14 検体のクロストリジア数は、10 未満/g (6 件) ~ 2.5×10^3 cfu/g であった。未殺菌粉末 11 検体では、10 未満/g (3 件) ~ 1.7×10^2 cfu/g であった。殺菌粉末 12 検体はすべて 10 未満/g であった。

取り扱い業者 E の未殺菌粉末 2 検体は、すべて 10 未満/g であった。また、殺菌粉末では、30 検体中 1 件のみ 4.1×10^1 cfu/g であり、他の 29 検体はすべて 10 未満/g であった。

3) 好気性芽胞菌数

好気性芽胞菌数も一般生菌数やクロストリジア数と同様に検体ごとにばらつきがあるが、取り扱い業者および殺菌の有無によりある程度の傾向が認められた(表 6, 図 2)

取り扱い業者 D の未殺菌原形検体 14 検体の好気性芽胞菌数は、 1.3×10^7 ~ 1.2×10^7 cfu/g, 10^7 cfu/g であったのはターメリック（原産国インド）であり、平均 1.4×10^6 cfu/g であった。未殺菌粉末 11 検体では、 3.0×10^6 ~ 3.9×10^5 cfu/g, 平均 4.8×10^4 cfu/g であった。殺菌粉末 12 検体では、10 未満/g (2 件) ~ 5.7×10^2 であった。

取り扱い業者 E の未殺菌粉末 2 検体は、10 未満/g と 1.3×10^3 cfu/g であった。殺菌粉末 30 検体では、10 未満/g (16 件) ~ 5.7×10^2 cfu/g であった。

4) *B cereus*

B cereus が検出されたのは、取り扱い業者 D の未殺菌原形検体では 14 検体中 3 件 (21%) が陽性で、セロリ（原産国インド） 5.5×10^2 , 白胡椒（原産国インドネシア） 5.0×10^1 , オールスパイス（原産国ジャマイカ） 1.5×10^1 cfu/g であった。未殺菌粉末では 11 検体中 6 件 (54.5%) が陽性で、フェヌグreek（原産国インド） 1.5×10^2 , オールスパイス（原産国ジャマイカ） 9.0×10^1 , ターメリック（原産国インド） 8.0×10^1 , およびコリアンダー（原産国モロッコ）、クローブ（原産国マダガスカル）とロー

レル（原産国トルコ）の 3 件が 5.0×10^1 cfu/g であった。取り扱い業者 E の検体は、未殺菌粉末 2 件、殺菌粉末 30 件のいずれからも *B cereus* は検出されなかった。

5) ウエルシュ菌

直接分離培養ではウエルシュ菌は 69 検体すべてから検出されなかった。増菌培養を行った結果、取り扱い業者 D の未殺菌原形 14 検体中 9 件 (57.1%), 未殺菌粉末 11 検体中 8 件 (81.8%), 殺菌粉末 12 検体中 3 件 (25.0%), 取り扱い業者 E の未殺菌粉末 2 検体中 1 件 (50.0%), 殺菌粉末 30 検体中 3 件 (10.0%) からウエルシュ菌が検出された。検出されたウエルシュ菌のエンテロトキシン産生能はすべて陰性であった (表 7)

6) ボツリヌス菌

69 検体中 1 件から D 型ボツリヌス菌を検出した。この検体は未殺菌原形（取り扱い業者 D）の黒胡椒 MG-1（原産国インド）であった。また、この検体の一般生菌数は、 5.4×10^6 , 好気性芽胞菌数 1.4×10^6 (*B cereus* 陰性), クロストリジア数 7.0×10^1 (エンテロトキシン産生能陰性ウエルシュ菌 1 個以下/g) であった (写真 3-1)

なお、粉末殺菌された検体（黒胡椒 MG-1 KS）からはボツリヌス菌は検出されなかった (写真 3-2)

D 考察

最近、ライフスタイルや食生活が多様化する一方、製造・流通技術や容器包装技術の進歩により常温で長期間保存が可能な食品が増加し、多く利用されるようになってきている。また、このような食生活の傾向に伴い、わが国では、保存食品を原因として発生することが多いボツリヌス食中毒にもその原因食品に変化が認められる。すなわち、従来からいずしを原因食品とする E 型食中毒がわが国では多く認められたが、最近では瓶詰め、缶詰、気密性のある容器包装食品等を原因とした A 型、B 型食中毒が主体となっている。

昨年度の本研究において、最近増加している「pH が 4.6 を超え、かつ、水分活性が 0.94 を超える若干の気体透過性を有する容器包装で、密封後 120°C、4 分に満たない条件で加圧加熱殺菌する食品」についてボツリヌス芽胞添加実験を行った。その結果、①当該食品は、原材料等がボツリヌス菌に汚染され

ている場合に食中毒を引き起こす危険性があること、
②当該食品については、容器包装詰加圧加熱殺菌食品に準ずる衛生管理が行われることが望ましいこと、等を提案した

今年度は、全国的に流通している容器包装詰低酸性食品について、品目毎のロット差および同一ロットの中での差異等に注目して、ボツリヌス菌汚染実態調査を行った

全国流通食品 10 品目 66 検体のボツリヌス汚染調査では、ボツリヌス毒素およびボツリヌス菌の検出された検体はなく、また、袋の膨張の認められた検体はなかった。しかし、pH および Aw については、検査した 66 検体のすべてが pH4.6 以上であり、Aw0.94 以上のものが 34 検体 (51.5%) であった。容器包装詰低酸性食品で問題になるボツリヌス I 群菌の発育条件 (毒素産生条件) は pH4.6 以上、Aw0.94 以上である。今回の調査において、ボツリヌス I 群菌が pH および Aw の条件で発育し毒素を産生できる食品が 34 検体 (51.5%) あった。これらの食品では、もしボツリヌス芽胞が存在した場合、発芽・増殖し、毒素産生に至る可能性のあることが示唆された。また、同一品目で同一ロットもしくは同一賞味期限の食品の中で、Aw が「0.94 以上」と「0.94 未満」に分かれた食品があった。これらの検体は、ボツリヌス芽胞が存在した場合、わずかな数値の差異および pH や塩分濃度、細菌叢等他の条件が互いに影響し、発芽・増殖、毒素産生に至る可能性があり、同一品目で同一ロットもしくは同一賞味期限の食品においても複数の食品を検体として調べる必要性があることが再確認された。また、一般生菌数、クロストリニア、好気性芽胞菌、*B. cereus* が検出された検体の多くが Aw0.94 未満であり、保存食品であったことから、市販の保存食品は、Aw により菌の発育は抑制されているが、必ずしも加熱が十分にされていないことが示唆された。

次に、容器包装詰低酸性食品がボツリヌス芽胞汚染された場合、その原因として可能性のある香辛料についてボツリヌス芽胞汚染実態調査を行った。

調査する香辛料は、当研究所で平成 10~11 年にかけて行った実態調査結果を基に検体を選んだ。すなわち、平成 10~11 年の実態調査で、クロストリジア陽性数が、輸入業者 A の製品では 61.5%、輸入業者 C では 41.8%、輸入業者 B では 0%と、香辛料輸入

業者により大きな差が認められたことから、取り扱い業者により殺菌の有無およびその方法が異なるのではと考え、取扱業者および殺菌の有無を区別して検体を選定した。

検査した結果、検体ごとにばらつきがあるが、取扱業者および殺菌の有無により細菌汚染実態についてある程度の差異が認められた。

未殺菌の原形香辛料 (取り扱い業者 D) では 14 検体中 1 件 (黒胡椒, 原産国インド) から D 型ボツリヌス菌を検出した。さらに、クロストリジア陽性 85.7%、*B. cereus* 陽性 21.4%、ウエルシュ菌陽性 57.1%であったこと、検出されたクロストリニアの中には、ボツリヌス菌と類似している *C. sprogenes* が 7 検体から分離されたことから、香辛料がボツリヌス菌に汚染される可能性のあることが示唆された。

未殺菌の粉末香辛料 (一般生菌数平均 2.6×10^6 cfu/g, 好気性芽胞菌数平均 6.2×10^4 cfu/g) は、未殺菌の原形香辛料 (一般生菌数平均 1.4×10^6 cfu/g, 好気性芽胞菌数平均 4.8×10^4 cfu/g) に比べ、一般生菌数、好気性芽胞菌数で平均 10^2 cfu/g 菌数が少なかった。一方 *B. cereus* は 54.5%、ウエルシュ菌は 81.8% が陽性であり、未殺菌原形の値に比較して *B. cereus* で 30.1 ポイント、ウエルシュ菌で 24.7 ポイント高い値であった。また、クロストリジア陽性の検体が 81.8%で、未殺菌原形 (85.7%) とほぼ同様であり、*C. sprogenes* と推定されるクロストリニアが 4 検体から分離されたことから、これらがボツリヌス菌に汚染される可能性も否定できないと考えられる (取り扱い業者 D)。一方取り扱い業者 E の未殺菌粉末検体は供試検体 2 検体と少なかったが、全体的にみて、取り扱い業者 D の検体よりも汚染菌量が低かった。

殺菌された粉末検体でも、好気性芽胞菌数 1.5×10^2 cfu/g (取り扱い業者 D) および 1.8×10^1 cfu/g (取り扱い業者 E)、クロストリジアは 25.0% (取り扱い業者 D) および 56.7% (取り扱い業者 E) 陽性であった。*B. cereus* は 42 検体すべてから検出されなかったが、ウエルシュ菌は取り扱い業者 D の検体 25.0%、取り扱い業者 E の検体 10.0%から検出された。

以上の結果より、殺菌により菌数は減少しているが、芽胞菌等は生残していることが明らかとなった。また、*C. sprogenes* と推定されるクロストリジアが

2 検体から分離されたことから、殺菌された粉末香辛料においても、ボツリヌス菌に汚染される可能性のあることが示唆された。今回供試した検体の種類および原産国の差異は特にみられなかった。

殺菌方法については、取り扱い業者 E のラヘルには「気流殺菌」と明記してあった。この殺菌法は、気流間を流れる加熱水蒸気に粉粒体食品を投入して移送中に瞬間殺菌するものである。「気流殺菌装置」は、種々の食品に適用されているが、香辛料は他の食品に比べ初発菌数が多いため、殺菌条件はやや強くなること、加熱による精油成分等の飛散を少なくするために原形または粗挽きの状態で殺菌した後、無菌的に粉碎処理することが推奨されている(寺山正典著,「熱殺菌のテクノロジー」高野光男,土戸哲明編,サイエンスフォーラム)しかし、殺菌した粉末の香辛料から、好気性芽胞菌、クロストリジウム、ウエルシュ菌が検出されたことから、殺菌後の二次汚染あるいは殺菌不完全の可能性が示唆された。

以上、容器包装詰低酸性食品および香辛料の検査成績から、食品の製造過程においてボツリヌス菌芽胞が生残した場合、ボツリヌス毒素を産生しボツリヌス食中毒が発生する可能性があることが示唆された。今後、熱殺菌条件の妥当性の評価や保存・流通条件を検討するとともに、未殺菌の原形香辛料から D 型ボツリヌス菌が検出されたことから、特に香辛料のボツリヌス汚染実態調査を続けていく必要があると考えられた。更に、多種類の香辛料をふんだんに使用したエスニック料理、アンアンテーストの料理の製品や半製品が多数流通し利用されていることから、これらの食品に対する汚染実態調査も必要であると思われる。なお、香辛料の細菌検査法がまだ確立されていないことから、早急な検討が必要であると考えられる。

E 結論

全国に流通している容器包装詰低酸性食品 10 品目 66 検体について、ボツリヌス菌を中心に汚染実態調査を行った結果、ボツリヌス毒素およびボツリヌス菌の検出された検体はなかった。しかし、pH および水分活性(Aw)の値から、ボツリヌス I 群菌が毒素を産生できる範囲内にある検体が 34 検体(51.5%)認められた。また、好気性芽胞菌陽性(28.8%)、クロストリシウム陽性(3.0%)の食品も認められ、その多くが保存食品であったことから、市販の保存食品は Aw により菌の発育は抑制されているが、必ずしも十分な加熱がなされていないことが示唆された。

次に、未殺菌原形、未殺菌粉末、殺菌粉末等、形状の異なる香辛料、計 69 検体についてボツリヌス菌を中心とした汚染実態調査を行った結果、黒胡椒 1 検体(未殺菌原形、原産国インド)から D 型ボツリヌス菌を検出した。香辛料の一般生菌数あるいは好気性芽胞菌数は、未殺菌原形検体で平均 10^6 cfu/g、未殺菌粉末検体で平均 10^4 cfu/g、殺菌粉末検体で平均 10^1 cfu/g であった。殺菌された粉末の香辛料からもクロストリジウムをはじめ多くの菌が検出されたことから、殺菌不十分あるいはその後の二次汚染が疑われた。これらの成績は、香辛料を用いた食品の製造においてボツリヌス菌芽胞が生残した場合、ボツリヌス毒素産生の可能性、あるいはボツリヌス食中毒の危険性のあることを示唆している。

F 健康危険情報

特になし

G 研究発表

特になし

表1-1 供試検体 香辛料
(取り扱い業者 D)

No	品名	原産国	検体名	形状	殺菌の有無
1	ターメリック	インド	ターメリックフィンガーマドラス	原形	未殺菌
2			ターメリック末P	粉末	未殺菌
3			ターメリック末PKSA	粉末	殺菌
4	黒胡椒	マレーシア	黒胡椒YELLOW	原形	未殺菌
5			黒胡椒末PKS	粉末	殺菌
6	黒胡椒	インド	黒胡椒MG-1	原形	未殺菌
7			黒胡椒MG-1 KS	粉末	殺菌
8	白胡椒	インドネシア	白胡椒 ASTA ムントク	原形	未殺菌
9			白胡椒末PKS	粉末	殺菌
10	クミン	イラン	クミン イラン	原形	未殺菌
11			クミン末P	粉末	未殺菌
12			クミン末PKS	粉末	殺菌
13	コリアンダー	モロッコ	コリアンダー モロッコ	原形	未殺菌
14			コリアンダー末P	粉末	未殺菌
15			コリアンダー末PKS	粉末	殺菌
16	セロリ	インド	セロリ	原形	未殺菌
17			セロリ末P	粉末	未殺菌
18	フェヌグリーク	インド	フェヌグリーク	原形	未殺菌
19			フェヌグリーク末P	粉末	未殺菌
20	ナツメグ	インドネシア	ナツメグ 110' S	原形	未殺菌
21			ナツメグ末P	粉末	未殺菌
22			ナツメグ末PKS	粉末	殺菌
23	オールスパイス	ジャマイカ	オールスパイス	原形	未殺菌
24			オールスパイス末P	粉末	未殺菌
25			オールスパイス末PKS	粉末	殺菌
26	桂皮	中国	桂皮 ホール 西江	原形	未殺菌
27			桂皮末P	粉末	未殺菌
28			桂皮末PKS	粉末	殺菌
29	クローブ	マダガスカル	クローブ マダガスカル	原形	未殺菌
30			クローブ末P	粉末	未殺菌
31			クローブ末PKS	粉末	殺菌
32	ローレル	トルコ	ローレル スタンダード トルコ	原形	未殺菌
33			ローレル末P	粉末	未殺菌
34			ローレル末PKS	粉末	殺菌
35	タイム	モロッコ	タイム グリーン	原形	未殺菌
36			タイム	粉末	未殺菌
37			タイム末PKS	粉末	殺菌

表1-2 供試検体 香辛料 (No 1～No 37)の形状一覧

品名	原産国	No	原形	No	粉末	No	粉末殺菌
ターメリック	インド	1	ターメリックフィンガーマドラス	2	ターメリック末P	3	ターメリック末PKSA
黒胡椒	マレーシア	4	黒胡椒YELLOW			5	黒胡椒末PKS
黒胡椒	インド	6	黒胡椒MG-1			7	黒胡椒MG-1 KS
白胡椒	インドネシア	8	白胡椒 ASTA ムントク			9	白胡椒末PKS
クミン	イラン	10	クミン イラン	11	クミン末P	12	クミン末PKS
コリアンダー	モロッコ	13	コリアンダー モロッコ	14	コリアンダー末P	15	コリアンダー末PKS
セロリ	インド	16	セロリ	17	セロリ末P		
フェヌグリーク	インド	18	フェヌグリーク	19	フェヌグリーク末P		
ナツメグ	インドネシア	20	ナツメグ 110'S	21	ナツメグ末P	22	ナツメグ末PKS
オールスパイス	ジャマイカ	23	オールスパイス	24	オールスパイス末P	25	オールスパイス末PKS
桂皮	中国	26	桂皮 ホール 西江	27	桂皮末P	28	桂皮末PKS
クローブ	マダガスカル	29	クローブ マダガスカル	30	クローブ末P	31	クローブ末PKS
ローレル	トルコ	32	ローレル スタンダード トルコ	33	ローレル末P	34	ローレル末PKS
タイム	モロッコ	35	タイム グリーン	36	タイム	37	タイム末PKS
計		14		11		12	

表2 供試検体 香辛料
(取り扱い業者 E)

No	品名	原産国	検体名	形状	殺菌の有無
38	クローブ	タンザニア	クローブパウダー	粉末	未殺菌
39	ローレル	トルコ	ローレルパウダー	粉末	未殺菌
40	黒胡椒	マレーシア	ブラックペッパーパウダー	粉末	殺菌
41	黒胡椒	インド	ブラックペッパーパウダー	粉末	殺菌
42	白胡椒	マレーシア	ホワイトペッパーパウダー	粉末	殺菌
43	白胡椒	インドネシア	ホワイトペッパーパウダー	粉末	殺菌
44	パプリカ	スペイン	パプリカパウダー	粉末	殺菌
45	パプリカ	チリ	パプリカパプリカパウダー	粉末	殺菌
46	クミン	インド	クミンパプリカパウダー	粉末	殺菌
47	コリアンダー	モロッコ	コリアンダーパウダー	粉末	殺菌
48	ターメリック	インド	ターメリックパウダー	粉末	殺菌
49	セロリシード	インド	セロリシードパプリカパウダー	粉末	殺菌
50	フェヌグリーク	インド	フェヌグリークパウダー	粉末	殺菌
51	ナツメグ	インドネシア	ナツメグパウダー	粉末	殺菌
52	オールスパイス	メキシコ	オールスパイスパウダー	粉末	殺菌
53	ガランガル	タイ	ガランガルパウダー	粉末	殺菌
54	カルダモン	インド	カルダモンパウダー	粉末	殺菌
55	オールスパイス	ジャマイカ	オールスパイスパウダー	粉末	殺菌
56	タイム	モロッコ	タイムパウダー	粉末	殺菌
57	オレガノ	トルコ	オレガノパウダー	粉末	殺菌
58	キャラウェイ	オランダ	キャラウェイパウダー	粉末	殺菌
59	シナモン	ベトナム	シナモンパプリカパウダー	粉末	殺菌
60	ジンジャ	中国	ジンジャパウダー	粉末	殺菌
61	スターアニス	中国	スターアニスパウダー	粉末	殺菌
62	セージ	トルコ	セージパウダー	粉末	殺菌
63	陳皮	中国	陳皮パウダー	粉末	殺菌
64	唐辛子	中国	唐辛子パウダー	粉末	殺菌
65	バジル	エジプト	バジルパウダー	粉末	殺菌
66	フェネル	中国	フェネルパプリカパウダー	粉末	殺菌
67	メース	インドネシア	メースパウダー	粉末	殺菌
68	ヤラピノ	アメリカ	ヤラピノパウダー	粉末	殺菌
69	ローズマリー	アルバニア	ローズマリーパウダー	粉末	殺菌

表3-1 容器包装詰食品の試験成績

検体名			検体			理化学 細菌試験結果											備考
ロットNo	賞味期限	重量(g)	No.	袋の膨張	pH	Aw	SPC(cfu/g)	Clk(cfu/g)	好芽(cfu/g)	Bc(cfu/g)	ホリヌス率	ホリヌス値					
椎茸のり佃煮	040223	170	1	無	4.9	0.87	3.3 × 10 ²	1未滿	5.5 × 10 ²	10未滿	(-)	(-)					
			2	無	4.9	0.87	3.6 × 10 ²	1未滿	4.0 × 10 ²	10未滿	(-)	(-)					
			3	無	4.9	0.87	1.0 × 10 ¹	1未滿	1.0 × 10 ¹	10未滿	(-)	(-)					
			4	無	4.9	0.86	6.2 × 10 ²	1未滿	8.0 × 10 ²	10未滿	(-)	(-)					
			5	無	4.9	0.86	4.1 × 10 ²	1未滿	1.1 × 10 ³	10未滿	(-)	(-)					
			6	無	4.9	0.86	4.4 × 10 ²	1未滿	4.4 × 10 ²	10未滿	(-)	(-)					
天日干したくあん(A)	040327	記載なし	7	無	6.1	0.94	3.0 × 10 ¹	1未滿	1.0 × 10 ¹	10未滿	(-)	(-)					
			8	無	6.1	0.94	10未滿	1未滿	10未滿	(-)	(-)						
			9	無	6.3	0.93	5.0 × 10 ¹	1未滿	4.5 × 10 ¹	10未滿	(-)	(-)					
			10	無	6.0	0.95	1.0 × 10 ¹	1未滿	2.0 × 10 ¹	10未滿	(-)	(-)					
天日干したくあん(B)	040319	記載なし	11	無	6.1	0.93	1.5 × 10 ¹	1	1.5 × 10 ¹	10未滿	(-)	(-)					
			12	無	6.0	0.93	1.5 × 10 ¹	1	4.5 × 10 ¹	10未滿	(-)	(-)					
			13	無	5.3	0.89	6.9 × 10 ²	1未滿	8.1 × 10 ²	2.1 × 10 ²	(-)	(-)					
			14	無	5.3	0.89	1.8 × 10 ³	1未滿	3.7 × 10 ²	1.4 × 10 ²	(-)	(-)					
ほうれん草汁	030901	66(22g×3)	15	無	5.3	0.89	6.3 × 10 ²	1未滿	7.3 × 10 ²	1.5 × 10 ²	(-)	(-)					
			16	無	6.2	0.96	10未滿	1未滿	10未滿	10未滿	(-)	(-)					
			17	無	6.2	0.96	10未滿	1未滿	10未滿	10未滿	(-)	(-)					
			18	無	6.2	0.96	10未滿	1未滿	10未滿	10未滿	(-)	(-)					
			19	無	6.2	0.96	10未滿	1未滿	10未滿	10未滿	(-)	(-)					
			20	無	6.2	0.96	10未滿	1未滿	10未滿	10未滿	(-)	(-)					
			21	無	6.2	0.96	10未滿	1未滿	10未滿	10未滿	(-)	(-)					
			22	無	6.2	0.95	10未滿	1未滿	10未滿	10未滿	(-)	(-)					
			23	無	6.2	0.96	1.0 × 10 ¹	1未滿	1.0 × 10 ¹	10未滿	(-)	(-)					
			24	無	6.2	0.95	10未滿	1未滿	10未滿	10未滿	(-)	(-)					
金時豆(A)	031101	1000	25	無	6.3	0.96	10未滿	1未滿	10未滿	10未滿	(-)	(-)					
			26	無	6.2	0.95	10未滿	1未滿	10未滿	10未滿	(-)	(-)					
			27	無	6.2	0.95	10未滿	1未滿	10未滿	10未滿	(-)	(-)					
			28	無	6.2	0.95	10未滿	1未滿	10未滿	10未滿	(-)	(-)					
			29	無	6.2	0.95	10未滿	1未滿	10未滿	10未滿	(-)	(-)					
			30	無	6.2	0.96	10未滿	1未滿	10未滿	10未滿	(-)	(-)					
金時豆(A)	111603	1000	31	無	6.2	0.95	10未滿	1未滿	10未滿	10未滿	(-)	(-)					
			32	無	6.2	0.95	10未滿	1未滿	10未滿	10未滿	(-)	(-)					
			33	無	6.2	0.95	10未滿	1未滿	10未滿	10未滿	(-)	(-)					

供試量 100g(但し No13~15は55g)

SPC(一般生菌数) 計測数が1g当たり10に満たない時は「10未滿」と記載 Clk(クロストリノア菌数) 計測数が1g当たり1に満たない時は「1未滿」と記載
 好芽(好気性芽胞菌数) 計測数が1g当たり10に満たない時は「10未滿」と記載 Bc (B.cereus 菌数) 計測数が1g当たり1に満たない時は「10未滿」と記載
 pH 小数点第一位まで記載
 Aw 小数点第二位まで記載し 0.98以上の場合は「0.98以上」と記載