

表3-3 者豆の検査結果

| 検体 番号 | pH | Aw | | ボツリヌス菌 | SPC (cfu/g) | クロストリシア (cfu/g) | 好気性芽胞菌 (cfu/g) | |
|----------|----|------|------|--------|----------------|--------------------|-------------------|------|
| | | 固形部分 | 溶液 | | | | | |
| I | 1 | 7.3 | 0.94 | 0.95 | | | | |
| | 2 | 7.3 | 0.94 | 0.95 | | | | |
| | 3 | 7.3 | 0.94 | | | | | |
| | 4 | 7.3 | 0.94 | | | | | |
| | 5 | 7.3 | 0.95 | | | | | |
| | 6 | | | | (-) | 10未満 | 1未満 | 10未満 |
| | 7 | | | | (-) | 10未満 | 1未満 | 10未満 |
| | 8 | | | | (-) | 10未満 | 1未満 | 10未満 |
| | 9 | | | | (-) | 10未満 | 1未満 | 10未満 |
| | 10 | | | | (-) | 10未満 | 1未満 | 10未満 |
| J | 1 | 6.4 | 0.96 | 0.96 | | | | |
| | 2 | 6.5 | 0.96 | 0.96 | | | | |
| | 3 | 6.5 | 0.96 | | | | | |
| | 4 | 6.5 | 0.96 | | | | | |
| | 5 | 6.5 | 0.96 | | | | | |
| | 6 | | | | (-) | 10未満 | 1未満 | 10未満 |
| | 7 | | | | (-) | 10未満 | 1未満 | 10未満 |
| | 8 | | | | (-) | 10未満 | 1未満 | 10未満 |
| | 9 | | | | (-) | 10未満 | 1未満 | 10未満 |
| | 10 | | | | (-) | 10未満 | 1未満 | 10未満 |
| K | 1 | 6.4 | 0.97 | 0.96 | | | | |
| | 2 | 6.5 | 0.96 | 0.96 | | | | |
| | 3 | 6.5 | 0.96 | | | | | |
| | 4 | 6.4 | 0.96 | | | | | |
| | 5 | 6.5 | 0.96 | | | | | |
| | 6 | | | | (-) | 10未満 | 1未満 | 10未満 |
| | 7 | | | | (-) | 10未満 | 1未満 | 10未満 |
| | 8 | | | | (-) | 10未満 | 1未満 | 10未満 |
| | 9 | | | | (-) | 10未満 | 1未満 | 10未満 |
| | 10 | | | | (-) | 10未満 | 1未満 | 10未満 |
| L | 1 | 6.5 | 0.96 | 0.96 | | | | |
| | 2 | 6.5 | 0.97 | 0.96 | | | | |
| | 3 | 6.5 | 0.96 | | | | | |
| | 4 | 6.4 | 0.96 | | | | | |
| | 5 | 6.5 | 0.97 | | | | | |
| | 6 | | | | (-) | 10未満 | 1未満 | 10未満 |
| | 7 | | | | (-) | 10未満 | 1未満 | 10未満 |
| | 8 | | | | (-) | 10未満 | 1未満 | 10未満 |
| | 9 | | | | (-) | 10未満 | 1未満 | 10未満 |
| | 10 | | | | (-) | 10未満 | 1未満 | 10未満 |

表4 ぎんなん水者伍詰の検査結果

| 検体 番号 | pH | | Aw | | ボソリヌス | SPC | クロストリジア | 好気性芽胞菌 |
|----------|------|------|------|------|-------|---------|---------|---------|
| | 固形部分 | 溶液部分 | 固形部分 | 溶液部分 | 菌 | (cfu/g) | (cfu/g) | (cfu/g) |
| M | 1 | 4.9 | 5.0 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 2 | 4.8 | 5.0 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 3 | 4.8 | 5.0 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 4 | 4.9 | 5.0 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 5 | 4.9 | 5.0 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| N | 1 | 4.8 | 5.0 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 2 | 4.8 | 5.0 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 3 | 4.8 | 5.0 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 4 | 4.8 | 5.0 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 5 | 4.8 | 5.0 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| O | 1 | 5.0 | 5.1 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 2 | 5.0 | 5.1 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 3 | 5.0 | 5.1 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 4 | 5.0 | 5.1 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 5 | 5.0 | 5.1 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| P | 1 | 4.9 | 5.1 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 2 | 4.8 | 5.0 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 3 | 4.9 | 5.1 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 4 | 4.9 | 5.1 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 5 | 4.9 | 5.0 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| Q | 1 | 4.9 | 5.0 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 2 | 4.9 | 5.0 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 3 | 4.9 | 5.0 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 4 | 4.9 | 5.1 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 5 | 4.9 | 5.0 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| R | 1 | 4.8 | 4.9 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 2 | 4.8 | 4.9 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 3 | 4.8 | 4.9 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 4 | 4.8 | 4.9 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 5 | 4.8 | 4.9 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| S | 1 | 5.2 | 5.3 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 2 | 5.3 | 5.3 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 3 | 5.3 | 5.4 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 4 | 5.2 | 5.3 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 5 | 5.3 | 5.3 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| T | 1 | 4.9 | 5.0 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 2 | 4.9 | 5.0 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 3 | 4.9 | 5.0 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 4 | 4.9 | 5.0 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 5 | 4.9 | 5.0 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| U | 1 | 4.6 | 4.7 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 2 | 4.6 | 4.7 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 3 | 4.7 | 4.7 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 4 | 4.6 | 4.7 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 5 | 4.6 | 4.7 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| V | 1 | 5.0 | 5.1 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 2 | 5.0 | 5.2 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 3 | 5.0 | 5.2 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 4 | 5.0 | 5.2 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |
| | 5 | 5.0 | 5.2 | 0.99 | 0.99 | (-) | 10未満 | 10未満 |

表5 水分活性測定 (ロトロニクAw-パーム、AWC-DIO型)

| 食品 | 測定時間 (分) | | | | | |
|----------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 |
| あったかごはん | 0 960 | 0 980 | 0 986 | 0 988 | 0 988 | 0 988 |
| ラーメン用メンマ | 0 954 | 0 960 | 0 962 | 0 962 | 0 962 | 0 962 |
| 焼き甘栗 | 0 949 | 0 951 | 0 952 | 0 953 | 0 956 | 0 956 |
| さつまいも | 0 944 | 0 945 | 0 947 | 0 949 | 0 951 | 0 951 |
| きのこの具 | 0 983 | 0 989 | 0 991 | 0 993 | 0 993 | 0 994 |
| 豚汁の具 | 0 984 | 0 987 | 0 993 | 0 994 | 0 996 | 0 996 |
| サハの照り焼き | 0 941 | 0 950 | 0 958 | 0 958 | 0 958 | 0 957 |

表6-1 容器包装詰低酸性食品の調査結果

| 商品名 | 規格 | pH | 常温流通 | その他 |
|---------------|---------------|------------------|------|---------|
| たけのこ水煮 | 350g | 4.6 | ○ | |
| 浅漬けの素 | 500ml | 4.3 | ○ | |
| 丸もちノグルハツク | 400g | 6 | ○ | |
| 切りもちノグルハツク | 400g/1kg | 6 | ○ | |
| 切りもちノグルハツク | 400g/1kg | 6 | ○ | |
| カリフォルニアブレスン | 240g | NT ¹⁾ | ○ | Aw 0.6 |
| カリフォルニア種抜きフルン | 400g | 4.0 | ○ | |
| ミカノセリー | 16g×30 | 3.9 | ○ | |
| チーズサンドたら | 110g | 6 | ○ | Aw 0.93 |
| 焼剣先するめ | 70g | NT | ○ | |
| 寿るめ | 5枚 | 6 | ○ | 水分16% |
| イチノヤム | 1kg | 3.8 | ○ | |
| 甘さひかえめイチノヤム | 170g | 4.3 | ○ | |
| ウスターソース | 500ml | 3.8 | ○ | |
| オイスターソース | 120g | 5.4 | ○ | 塩分11% |
| おろししょうが | 40g | 3.6 | ○ | |
| お好みソース | 500g | 4.4 | ○ | |
| しょうゆ特級(本醸造) | 1l | NT | ○ | 塩分16% |
| トマトケチャップ | 500g/1kg | 3.8 | ○ | |
| ドレッシング(オリーブ) | 500ml | 3.5 | ○ | |
| とんかつソース | 500ml | 3.6 | ○ | |
| ねりからし | 43g | 4.5 | ○ | |
| ノンオイル青しそ | 190ml | 4 | ○ | |
| マヨネーズ | 1kg | 4.2 | ○ | |
| みりん風調味料 | 1000ml | 2.3 | ○ | |
| 香味焙煎胡麻ドレッシング | 300ml | 4.3 | ○ | |
| 生おろしわさび | 43g | 4.1 | ○ | |
| 中濃ソース | 500ml | NT | ○ | |
| 本みりん | 1000ml | 5.6 | ○ | |
| 料理酒 | 1L | 3.9 | ○ | |
| たしの素(顆粒) | 150g | 6.6 | ○ | 塩分1.5% |
| つゆ(2倍) | 400ml | 5.1 | ○ | 塩分7% |
| 鶏がらスープ | 50g | NT | ○ | |
| すき焼のタレ 関西用 | 500ml | 4.8 | ○ | 塩分8% |
| 焼肉のたれ(甘口) | 400g | 4.4 | ○ | 塩分6% |
| 焼肉のたれ(中辛) | 400g | 4.5 | ○ | 塩分6% |
| 信州合わせみそ汁 | 21.2g×10食/×3食 | 5.1 | ○ | 塩分10% |
| 味付けぼん酢 | 360ml | 3.9 | ○ | |
| 味付けサシ | 100g | 4.8 | ○ | 塩分8% |

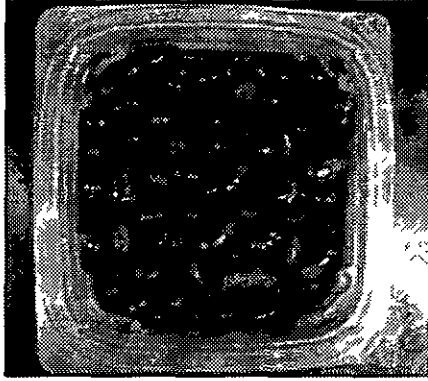
表6-2 容器包装詰低酸性食品の調査結果

| 商品名 | 規格 | pH | 常温流通 | その他 |
|-----------------|-------------|-----|------|------|
| 味付メンマ | 100g | 4.5 | ○ | |
| ごはんこんにゃく100% | 200g/200g×3 | 6.6 | ○ | |
| ハキハキなめ茸 | 170g | 4.8 | ○ | 塩分3% |
| 我が家のぼん酢 | 360ml | 3.7 | ○ | |
| 海苔じまん | 180g | 5.2 | ○ | 塩分6% |
| コーラ | 500ml | 2.5 | ○ | |
| 野菜ジュース | 900g | 4.2 | ○ | |
| フリノ | 78g×3 | 6.8 | × | |
| アップルジュース100 | 1000ml | 3.7 | × | |
| オレンジジュース100 | 1000ml | NT | × | |
| グレープジュース100 | 1000ml | 3.2 | × | |
| グレープフルーツジュース100 | 1000ml | NT | × | |
| モカブレンドコーヒー100 | 100g×2 | NT | × | |
| 野菜のめぐみ | 1000ml | 3.9 | × | |
| うどんつゆ | 300ml | 5.5 | × | |
| 紀州南高梅 | 900g | 2.6 | × | |
| まるごと胡瓜 | 160g | 4.7 | × | |
| 刻み紅しょうが | 80g | 3.6 | × | |
| 長茄子漬 | 140g | 4.6 | × | |
| いか塩辛 | 180g | 6 | × | 塩分5% |
| かつおたくあん | 210g | 4.7 | × | 塩分3% |
| 福神漬 | 120g | NT | × | |
| 甘らつきょう | 170g | NT | × | |
| かに風味かまぼこフレッシュ | 10本入(127g) | NT | × | |
| ごま昆布 | 130g | 5 | × | 塩分6% |
| しいたけ昆布 | 120g | 5 | × | 塩分6% |
| ちくわ | 4本 | 7 | × | 塩分2% |
| はも入りかまぼこ(紅) | 95g | 7 | × | |
| はも入りかまぼこ(焼) | 95g | 7 | × | |
| はも入りかまぼこ(白) | 95g | 7 | × | |
| ふっくら小粒 | 納豆50g×3 | 7 | × | |
| 絹姉妹とうふ | 150g×2 | 6.4 | × | |
| 萃し焼きそば | 3人前 | 8.2 | × | |

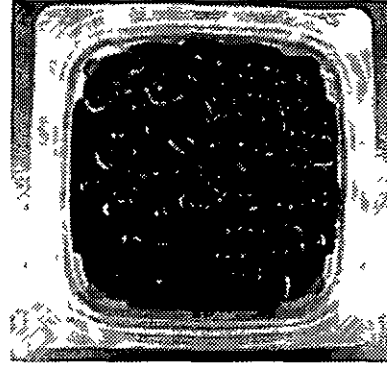
¹⁾ NT, not tested

表7 容器包装詰常温保存の調査結果（大阪府）

| 商品名 | 保存方法 | pH | Aw |
|----------------|-------------------|------|-------|
| ラーメン用メンマ | 高温直射日光をさけて、涼しい場所 | 5.55 | 0.962 |
| 皮むき焼甘新含気食品 | 高温の所を避け、冷所に保存 | 5.82 | 0.956 |
| さつまいも新含気食品 | 高温の所を避け、冷所に保存 | 5.70 | 0.951 |
| あったかごはん HTST製法 | 高温直射日光を避け、常温で保存 | 6.84 | 0.988 |
| 麺好亭 コーン | 冷暗所にて保存 | 6.61 | 0.977 |
| かき鍋スープ | 記載なし | 4.85 | 0.919 |
| 燻しかつおとうとんたし | 冷所または冷蔵庫で保管 | 5.36 | 0.999 |
| ふっくら炊きたてこ飯 | 直射日光、高温多湿をさけ常温保存 | 6.51 | 0.991 |
| タケノコ水煮 | 直射日光を避け湿気の少ない涼しい所 | 4.80 | 0.996 |
| チンシャオローソー水煮 | 直射日光を避け湿気の少ない涼しい所 | 4.53 | 0.994 |
| ぜんまい | 直射日光を避け湿気の少ない涼しい所 | 4.46 | 0.994 |
| にしん姿煮 | 冷所または冷蔵庫で保管 | 5.22 | 0.913 |
| きんぴられんこん | 高温の所を避け、冷暗所に保存 | 4.04 | 0.995 |



金時豆



丹波黒豆

真空袋包装品、加圧加熱殺菌



金時豆



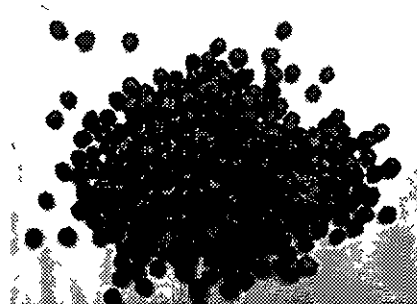
丹波黒豆

真空袋包装品、真空ボイル殺菌

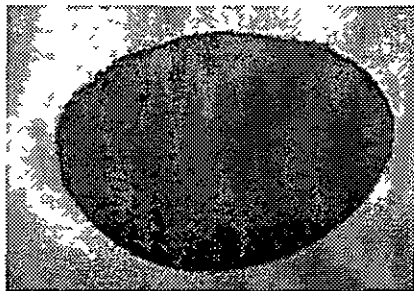
図1 煮豆類



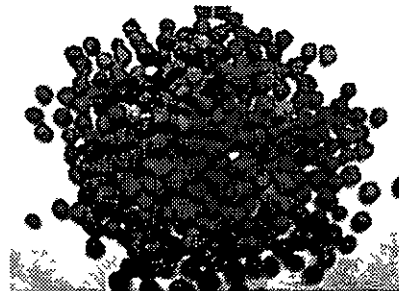
1 ターメリック 原形



2 黒胡椒 原形



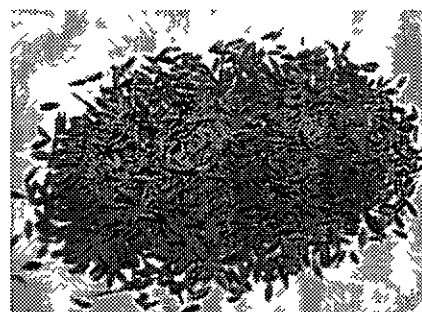
3 黒胡椒 粉末



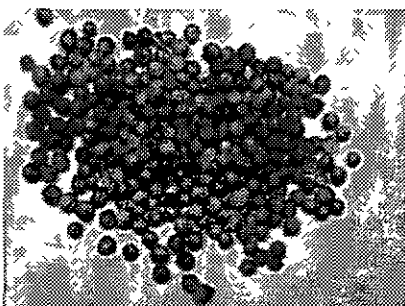
4 黒胡椒 原形



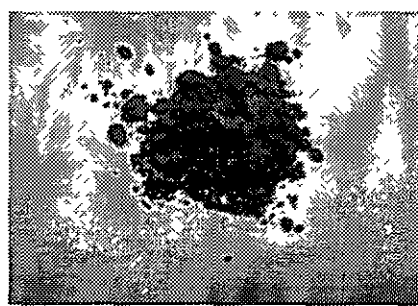
5 黒胡椒 粉末



6 クミン 原形

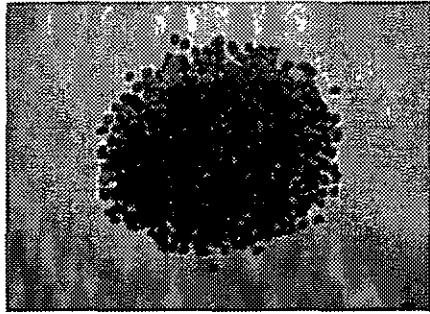


7 コリアンダー 原形

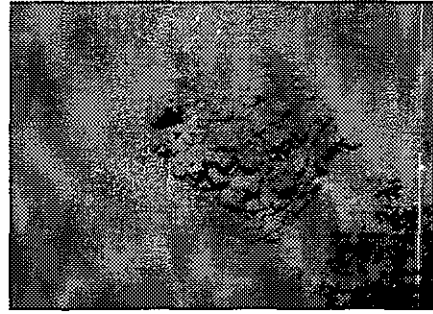


8 セロリ 粉末

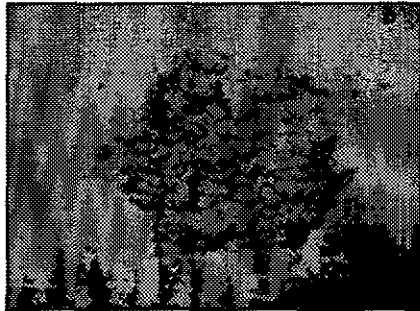
図 2-1



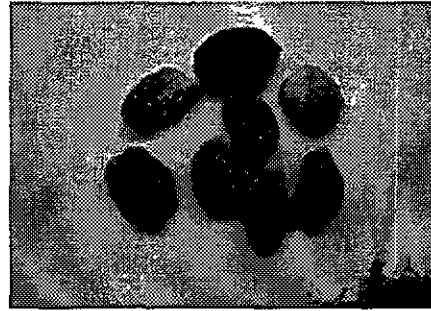
9 フェヌグリーク 原形



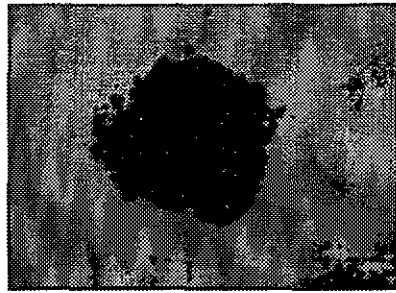
10 フェヌグリーク 粉末



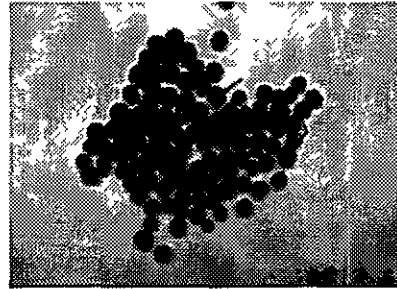
11 フェヌグリーク 粉末



12 ナノメグ 原形



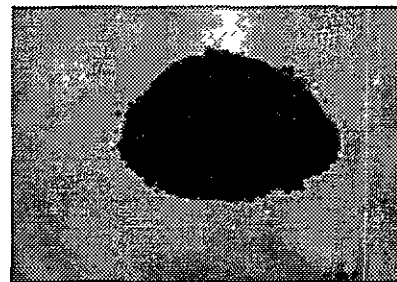
13 ナノメグ 粉末



14 オールスハイス 原形

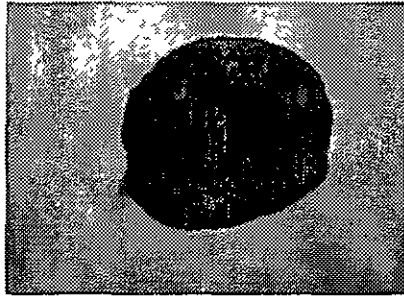


15 桂皮 原形

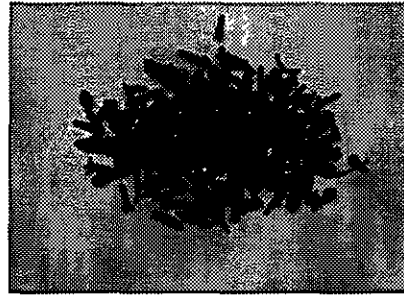


16 桂皮 粉末

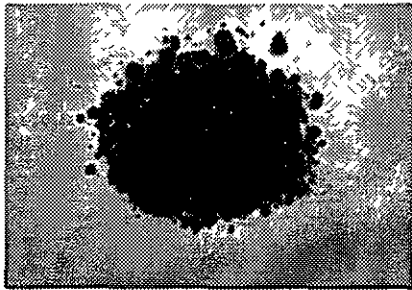
図 2-2



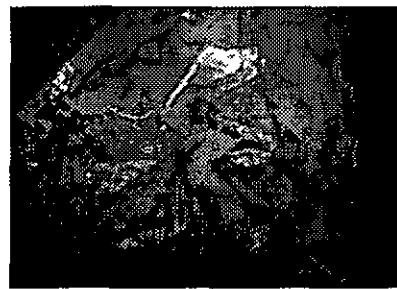
17 桂皮 粉末



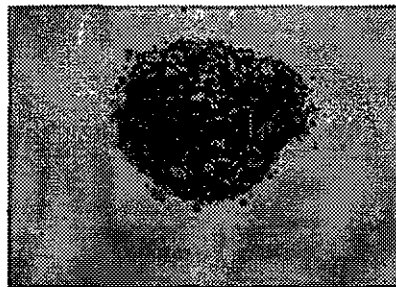
18 クローブ 原形



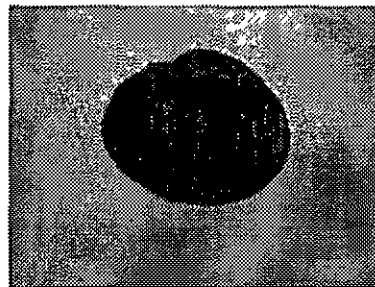
19 クローブ 粉末



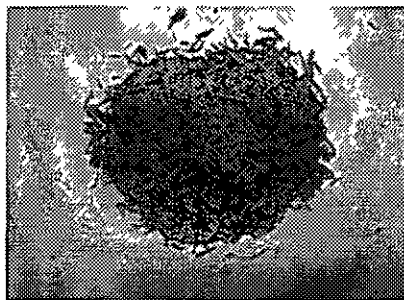
20 ローレル 原形



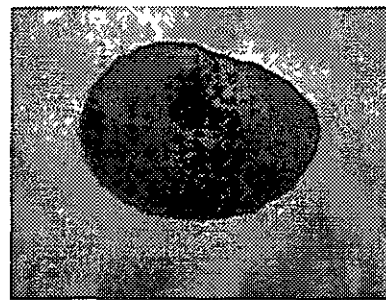
21 ローレル 粉末



22 ローレル 粉末

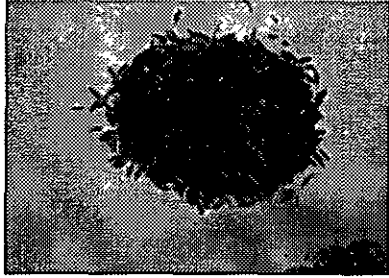


23 タイム 原形

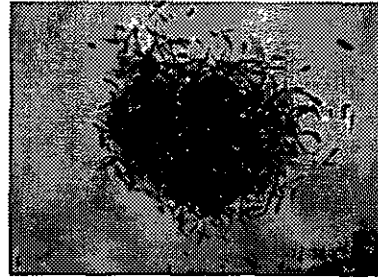


24 タイム 粉末

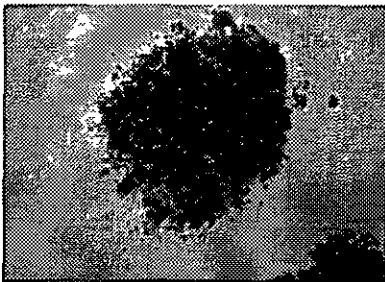
☒ 2-3



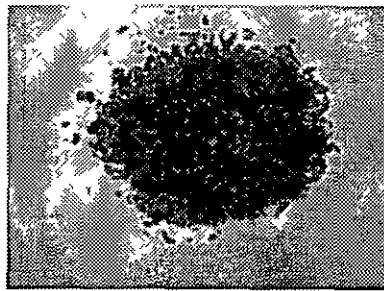
25 クミン 厚形



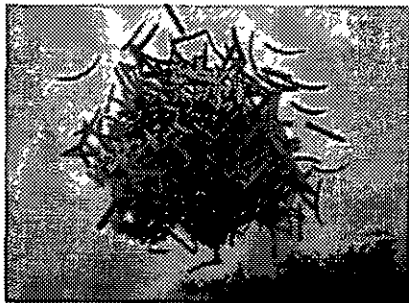
26 タイム 原形



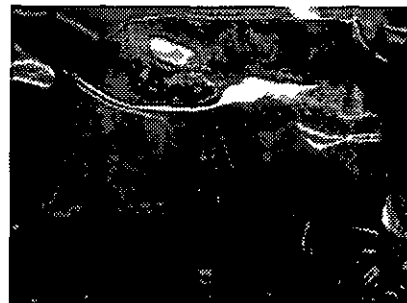
27 セージ 粉末



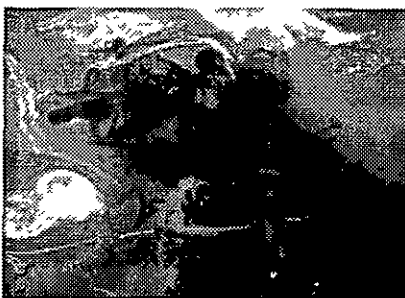
28 オレガノ 粉末



29 ローズマリー 原形

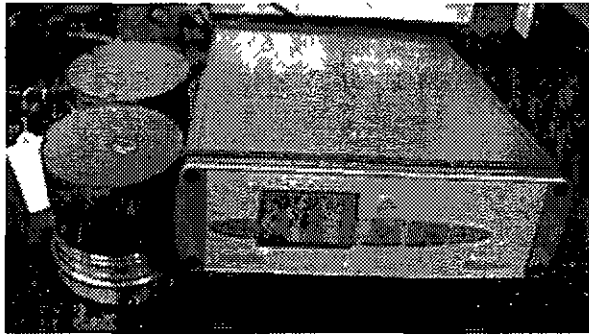


30 月桂樹 原形



31 メース 原形

図 2-4



水分活性測定器 (Aw-ラボ、ロトロニック)



煮豆類を測定容器に充填

図3 水分活性測定

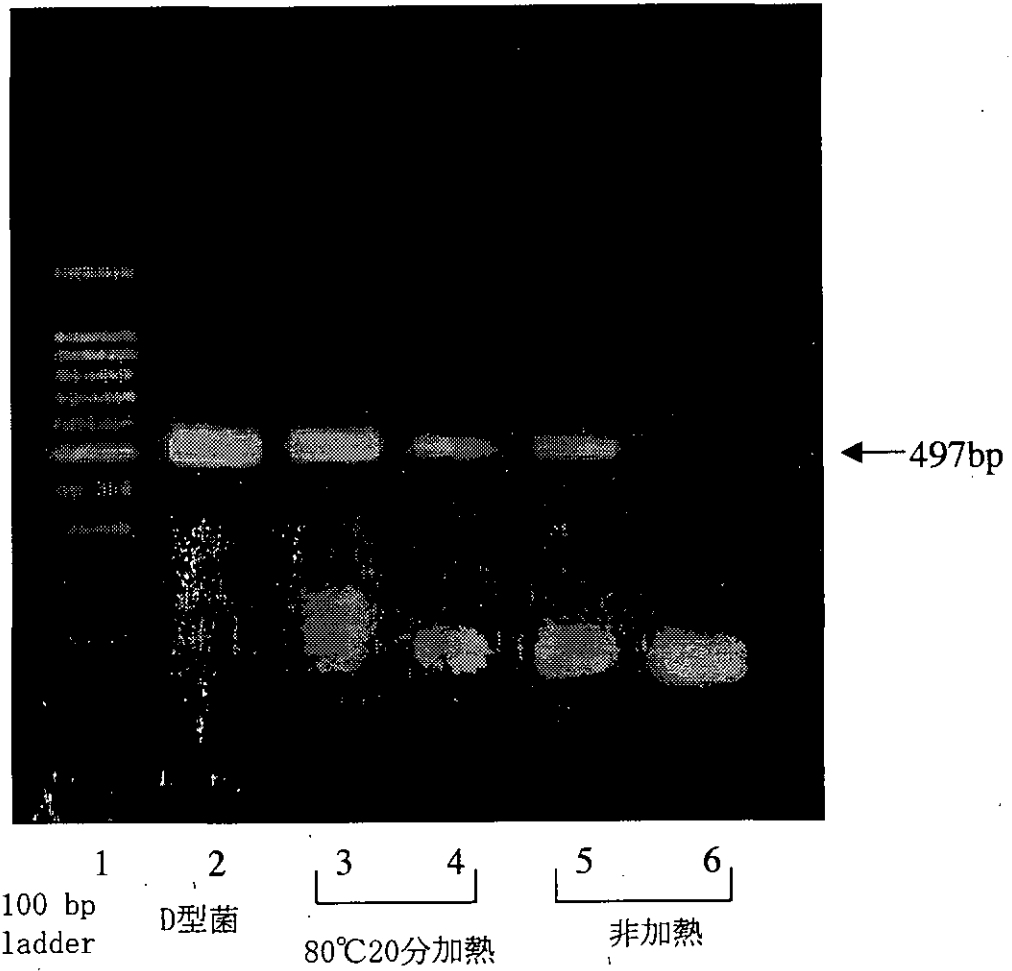


図4. PCRによる培養液中のボツリヌス菌
D型毒素遺伝子

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

流通食品および関連食材の理化学的・細菌学的性状とボツリヌス菌汚染調査

分担研究者 林 賢一 滋賀県立衛生環境センター 微生物担当

研究協力者 石川和彦 滋賀県立衛生環境センター 微生物担当

研究協力者 岡田敦史 滋賀県立衛生環境センター 微生物担当

研究要旨

容器包装詰低酸性食品について、ボツリヌス食中毒に対するリスク評価を行うため、容器包装詰低酸性食品 3 品目 25 ロット 115 検体について理化学試験および細菌試験を行ったところ、1 検体のみに好気性芽胞菌である *Bacillus coagulans* による細菌汚染が認められた。しかし、これらの食品からボツリヌス菌やボツリヌス毒素は検出されず、嫌気性菌も検出されなかった。一方、供試品の pH および A_w はボツリヌス菌が発育できる可能性のある検体が多く見られたことから、ボツリヌス菌による汚染が起こりうる可能性については更なる検討が必要である。

また、加工食品の風味付けに使用されている野菜エキス 7 品目 8 ロット 8 検体について細菌試験を行ったところ、6 検体に細菌汚染が認められ、2 検体では嫌気性菌も検出された。嫌気性菌が検出されたことは、ボツリヌス菌の汚染が危惧され、これらの製品については今後も広い加工食品に利用されていく可能性があることから、これらの品目についてもボツリヌス菌の汚染実態について検討していく必要がある。

A. 研究目的

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を行うためには、これらの食品の理化学的性状およびボツリヌス菌の汚染状況を把握することが重要である。今年度は、全国的に流通している低酸性食品を対象として、理化学的性状、一般細菌汚染状況とともにボツリヌス菌の汚染調査を行い、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を行うこととした。

また、これらの食品に使用されている関連食材として、加工食品の風味付け調味料素材として利用されている野菜エキスについて、一般細菌汚染状況とともにボツリヌス菌の汚染調査を行い、細菌学的評価を行った。

B. 研究方法

1. 供試食品

1-1. 容器包装詰低酸性食品

(社)日本缶詰協会および全国調理食品工業協同組合に、全国流通している容器包装詰低酸性食品の抽出を依頼した。調査対象とした食品は、8つ(OA、FA、NA、NB、NC、ND、NE および NF)のメーカーで製造された3品目とした。供試検体については、1ロット5検体を原則としたが、5検体の中に賞味期限の時期が異なるものも見られたので、この場合には別ロットとして計上した。すなわち、ロット数は25となり、検体数は115(図1-1~1-6)で、これらについて理化学試験とともに、一般生菌数、好気性芽胞菌数、嫌気性菌数、ボツリヌス菌およびボツリヌス毒素(一部の製品について直接製品中の毒素を検査)について調べた。

1-2. 野菜エキス

A社から、加工食品の風味付け調味料素材である野菜エキスの提供を受け、7品目8ロット8検体を供試した。これらについて、一般生菌数、好気性芽胞菌数、

嫌気性菌数およびボツリヌス菌について調べた。

2 試料原液の作製

2-1 容器包装詰低酸性食品

検体を開封後、容器の中でよく混合し、各々100g を検体として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）に入れ、等量の滅菌精製水を加え、1 分間ストマンキングし、試料原液（2 倍希釈液）を作製した。

2-2 野菜エキス

サンプル容器入り野菜エキスの全量を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）に入れ、等量～2 倍量の滅菌精製水を加え、1 分間ストマンキングした。次に、試料原液（2～3 倍希釈液）を作製した。検査手順の概要を図 2 に示す。

3 理化学試験

3-1 水分活性の測定

容器包装詰低酸性食品を対象として水分活性（ A_w ）を測定した。

供試食品を開封後、検体の一部（約 5g）をそのまま試料として、直ちに水分活性測定器（DECAGON 社製、アクアラブ CX-3TE）を用いて A_w を測定した。

3-2 pH の測定

容器包装詰低酸性食品を対象として pH を測定した。試料原液を用いて、pH メーター（HORIBA 製、EX20）により測定した。

4 培地および試薬

4-1 一般生菌数および好気性芽胞菌数測定用培地

市販の標準寒天培地（日水製）を用いた。

4-2 クロストリジニア測定用培地

市販のクロストリジニア測定用培地（日水製）を用いた。試料 10ml を用いた場合には定法の分量（70.3g）を溶解し、試料を 1ml を用いた場合には 1000ml あたり 46.9g（常法の 2/3 量）の濃度に調整した。

4-3 ボツリヌス毒素抗血清

ボツリヌス毒素抗血清は A～F 型抗血清（千葉県血清研究所製）を用いた。

4-4 マウス

マウス毒性試験およびボツリヌス毒素の検出には、ddY 系マウス（雄、体重 約 20 g）を用いた。

4-5 ゼラチン緩衝液（pH 6.2）

リン酸一水素ナトリウム（4g）を精製水（1,000ml）に溶解し、塩酸で pH 6.2 に調整した。この溶液にゼラチンを 2% 加え、121℃で 15 分間滅菌したものを用いた。

5 細菌試験

5-1 一般生菌数の測定

1) 容器包装詰低酸性食品

試料原液に 5 倍量の滅菌 0.1% ペプトン加生理食塩水を加え 10 倍希釈液を作製した。10 倍希釈液 1ml ずつを 2 枚の滅菌ポリヤーレに入れ、滅菌した標準寒天培地（日水製）を加えて混釈後寒天を固め、同培地を重層し寒天を固めた後、35℃で 48 時間培養後、菌数を測定した。なお、発育菌については、基本性状を調べたのち API50CHB/E（Biomerieux 製）等のキントを用いて同定した。

2) 野菜エキス

試料原液 1ml に適量の滅菌精製水を加えて 10 倍希釈液および 1,000 倍希釈液を作製し、容器包装詰低酸性食品と同様の方法で培養し、菌数を測定した。

5-2 好気性芽胞菌数の測定

1) 容器包装詰低酸性食品

10 倍希釈液を 65℃で 20 分間加熱し、標準寒天培地（日水製）を用いて混釈後寒天を固め、同培地を重層し寒天を固めた後、35℃で 48 時間培養後に菌数を測定した。なお、発育菌の同定については、基本性状を調べたのち、API50CHB/E（Biomerieux 製）等の同定キントを用いて同定した。

2) 野菜エキス

試料原液 1ml に適量の滅菌精製水を加えて 10 倍希釈液および 1,000 倍希釈液を作製し、容器包装詰低酸性食品と同様の方法で加熱後培養し、菌数を測定した。

5-3 嫌気性菌数の測定

1) 容器包装詰低酸性食品

10 倍段階希釈液 10ml を 65℃で 20 分間加熱し、加熱試料とともにクロストリジニア培地（日水製）をパウチに入れ混釈し、同培地を固めた後、35℃で 1～5 日間培養後に菌数を測定した。

2) 野菜エキス

試料原液 1ml に適量の滅菌精製水を加えて 10 倍希釈液および 1,000 倍希釈液を作製し、容器包装詰低酸性食品と同様の方法で培養し、菌数を測定した。

5-4 ボツリヌス菌の検出用増菌培養

1) 容器包装詰低酸性食品

試料原液（2倍希釈液）5mlを滅菌した試験管に入れ、65℃で20分間加熱した試料と非加熱の試料1mlをつくり、それぞれ2本の0.3%ブドウ糖および0.2%可溶性澱粉を加えたクノクドミート培地（Difco製、12ml）に入れ、30℃で7日間、ガスパンクシステムにより嫌気培養した。

培養後、各々試験管ごとの培養液あるいは同一検体の4本の培養液を混合した試料を、4℃下で3,000rpmで20分間遠心分離した。その上清に等量の0.2%トリプノン（Difco製）加ゼラチン緩衝液（pH6.2）を加えよく混合した後、37℃で30分間処理し、その0.5mlずつを2匹のマウスの腹腔内に接種した。接種後5日間マウスの生死を観察した。マウス毒性試験によりボツリヌス毒素の存在が疑われた場合には、ボツリヌス毒素抗血清を用いて中和後、マウス試験により特異なタイプの抗毒素血清を接種したマウスが生存し、かつ100℃10分間加熱試料を接種したマウスが生存した場合、培養液のボツリヌス毒素陽性とし、検体中にボツリヌス菌が存在したものと判断した。また、ボツリヌス毒素陽性の場合には、各試験管ごとにボツリヌス毒素陽性試験管を特定するとともに、ボツリヌス菌の分離を行うこととした。

2) 野菜エキス

試料原液全量を遠沈管に移し、1,500rpmで5分間遠心分離した。その上清を別の遠沈管に移し、10,000rpmで30分間遠心分離した。次に、沈渣に4mlの滅菌した0.1%ペプトン加生理食塩水を加え、沈渣を再浮遊させ、その1mlずつを2本の0.3%ブドウ糖および0.2%可溶性澱粉を加えたクノクドミート培地（12ml）に接種した。残りの2mlについては60℃で20分間加熱後、1mlずつ2本の0.3%ブドウ糖および0.2%可溶性澱粉を加えたクノクドミート培地（12ml）に接種し、いずれも30℃で7日間、ガスパンクシステムを用いて嫌気培養した。ボツリヌス毒素の検出方法については、容器包装詰低酸性食品と同様の方法によって行った。

5-5 食品中のボツリヌス毒素の検出

一部の容器包装詰低酸性食品については、試料原液からのボツリヌス毒素の有無を調べた。試料原液に等量の0.2%トリプシン（Difco製）加ゼラチン緩衝液（pH6.2）を加えよく混合した後37℃で30分間処理し、その0.5mlずつを2匹のマウスの腹腔内に接種した。

接種後5日間マウスの生死を観察し、ボツリヌス毒素の有無を調べた。

6 倫理面への配慮と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、滋賀県立衛生環境センター病原体等安全管理規程に基づいて、専用の実験室で実施した。芽胞摂取後膨張した試料の開封は安全キャビネット内で行い、使用した実験器具は、実験後すみやかに121℃で30分間オートクレーブにより処理した。

C 研究結果

1 容器包装詰低酸性食品

3品目25ロット115検体について、理化学試験（pHおよびAw）ならびに細菌試験（一般生菌数、好気性芽胞菌数、嫌気性菌数およびボツリヌス菌）について調査した。供試食品の結果の総括を表1に、個別成績を表2-1～2-5に示す。

供試食品の包装形態としては、1品目3ロット（A-1～A-3）15検体がヒニールパウチ入り、その他の品目100検体はすべて瓶入りであった。また、保管に関する表示（一部未確認）としては、常温あるいは開封後要冷蔵であり、すべての供試検体が開封するまで常温保管される品目であった。

これらの115検体について理化試験を行った結果、pH、Awともに同じ品目でも性状が大きく異なっていたが、ロット別ではほぼ同様の性状を示していた。項目別の結果としては、pHは4.6～5.5、Awは0.94～0.98以上で、ロットの違いにより大きな差異が認められた。

細菌試験の結果では、25ロット115検体中1ロット5検体のうち1検体（検体No28）に細菌汚染が認められた。その一般生菌数は1gあたり 1.6×10^4 cfu、好気性芽胞菌数は1gあたり 1.6×10^3 cfuであった。しかし、嫌気性菌数は検出限界未満（1gあたり1cfu未満）であった。一般生菌数の培地に発育した10集落および好気性芽胞菌数の培地に発育した5集落、計15株について性状を調べた結果、すべて*Bacillus coagulans*と同定された。

その他の検体では、一般生菌数（検出限界は10cfu未満/g）、好気性芽胞菌数（検出限界は10cfu未満/g）および嫌気性菌数（検出限界は1cfu未満/g）も検出限

界未満であった。

また、すべての検体からボツリヌス菌は検出されず、20 検体について食品から直接ボツリヌス毒素の検索を行ったが、どの検体からも検出されなかった。さらに、供試検体すべてについて異臭、気泡の産生等の肉眼的異常について調べたが、すべて異常は認められなかった。

2 野菜エキス

7 品目 8 ロット 8 検体について理化学試験 (pH および Aw) ならびに細菌試験 (一般生菌数、好気性芽胞菌数、嫌気性菌数およびボツリヌス菌) について調べた結果を表 3 に示す。

供試した 8 検体の原産国は、1 品目 2 ロット 2 検体 (D-1) はフランス、2 品目 2 ロット 2 検体 (D-2、D-3) は日本および 4 品目 4 ロット 4 検体 (D-4、D-5、D-6 および D-7) は中国であった。加熱処理については、条件は異なるもののすべての検体で行われていた。また、供試品の水溶性としては、「エキスパウダー」という商品は水溶性であったが、「パウダー」では難水溶性を示した。

これら 8 検体について細菌試験の行ったところ、100℃以上の加熱処理が行われていた 2 検体 (検体 No.117 および No.118) では検出限界未満であったが、6 検体で細菌汚染が認められた。細菌汚染が認められた 6 検体では、1g あたり $10^2 \sim 10^3$ オーダーで認められ、一般生菌数と好気性芽胞菌数はほぼ同数であった。一方、嫌気性菌数では 2 検体のみに認められ、その菌数は 1g あたり 20 と 220 で、前者では 80℃で 30 分、後者では 80℃で 10 分の加熱処理が行われていた。嫌気性菌数と一般生菌数および好気性芽胞菌数の検出菌数では、とくに関連性は認められなかった。また、ボツリヌス菌はどの検体からも検出されなかった。

D 考察

食品衛生法により食品 添加物の規格基準が定められている容器包装詰加圧加熱殺菌食品 (120℃、4 分以上の加熱を必要とする) のほかに、十分な加熱処理がされていないにもかかわらず、常温で販売されている容器包装詰食品が多く製造・販売されている。

今回供試した容器包装詰は、原則 100℃以上の加熱がされていない容器包装詰低酸性食品で全国的に流通している当該食品をを選別し、理化学試験 (pH およ

び Aw) のほか、一般生菌数、好気性芽胞菌数、嫌気性菌数およびボツリヌス菌の汚染調査を行うこととした。

理化学試験の結果からは、ボツリヌス菌の汚染があった場合、ボツリヌス食中毒を引き起こす可能性のある、pH4.6 を越え、かつ Aw が 0.94 を越える食品が多く含まれていた。しかし、細菌試験の結果では、1 検体のみに細菌汚染が見られたのみで、これらの細菌はすべて *Bacillus coagulans* (好気性芽胞菌) であった。Bergey's manual(1986)によると、*Bacillus* 属の生息地は土壌で多くが発酵に関係しており、*B. coagulans* の語源は「凝固する」、発育最適 pH は 6 と低く菌株によって異なるが発育最低 pH は 4.0~5.0 であり、酸性食品でも増殖するという。事実、*B. coagulans* はかまぼこの変敗品から検出されている (茂木ら、1970)。また、米国食品医薬品局・食品安全 応用栄養センター (US FDA CFSAN) 編「食中毒に係わる病原微生物および自然毒ハンドブック」によると、同属の *Bacillus cereus* は Aw は 0.95 以上、pH は 4.9~9.3、温度は 10~49℃で発育すると記載されている。*B. coagulans* が検出された食品は pH5.4、Aw0.96 であったことから、当該食品中でも発育した可能性はあるものの、食品中で増殖するためには食塩濃度などのその他の要因も関係することから、検出菌数が 1g あたり 10^4 であったことを考え合わせると、当該食品中で増えたのかどうかについては推測することはできなかった。また、同じロットの他の 4 検体からは検出されなかったことから、なぜ当該検体にのみ検出されたのかについても不明であり、原因の解明が必要と考えている。

なお、供試食品中のボツリヌス菌やボツリヌス毒素について調べたが、すべて不検出であったこと、嫌気性菌は検出されなかったことから、供試食品がボツリヌス食中毒を起こす可能性についてはいずれもリスクの低い品目であると推測される。しかし、pH や Aw の性状から考えるとボツリヌス食中毒の危険性のある食品群であり、ボツリヌス菌による汚染が起こりうる可能性があるかどうかについては更なる検討が必要である。

一方、食品の風味付けに用いられている野菜エキスについては、多くの供試品に細菌汚染が認められ、一部では嫌気性菌の存在も確認された。これらの加熱条件では、どの検体でもボツリヌス菌の汚染があれば生存

できると考えられること、原材料は土壌で栽培される野菜であること、また国内に限らず諸外国で生産された原料が使用されていることから、これらの品目についてはさらにボツリヌス菌の汚染実態について検討していく必要があると考える。また、今回は、製品から汚染菌を抽出する方法については試行錯誤しながら行ったため、このような製品からボツリヌス菌の汚染実態を把握するための適切な検査方法についても今後検討する必要があると考える。

E 結論

1 容器包装詰低酸性食品 3 品目 25 ロット 115 検体について理化学試験および細菌学試験を行ったところ、1 検体のみ好気性芽胞菌である *Bacillus coagulans* による細菌汚染が認められた。しかし、これらの食品からボツリヌス菌やボツリヌス毒素は検出されず、嫌気性菌も検出されなかった。しかし、供試品の pH および Aw はボツリヌス菌が発育できる可能性のある検体が多く見られたことから、ボツリヌス菌による汚染が起こりうる可能性については更なる検討が必要である。

2 野菜エキス 7 品目 8 ロット 8 検体について細菌試験を行ったところ、6 検体に細菌汚染が認められ、2 検体では嫌気性菌も検出された。嫌気性菌が検出されたことは、ボツリヌス菌の汚染が危惧され、これらの製品については今後も広い加工食品に利用されていく可能性があることから、ボツリヌス菌の汚染実態について更に検討していく必要がある。また、このような製品からボツリヌス菌を検出する場合の適切な検査方法についても検討していく必要がある。

F 健康危険情報

なし

G 研究発表

1 論文発表

なし

2 学会発表

なし

H 知的財産権の出願 登録状況

なし

図1-1 供試食品の概要 I


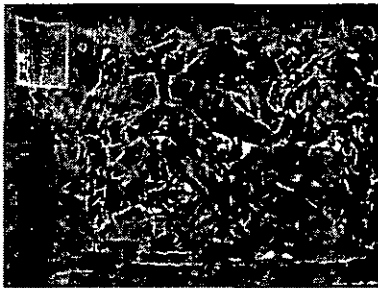

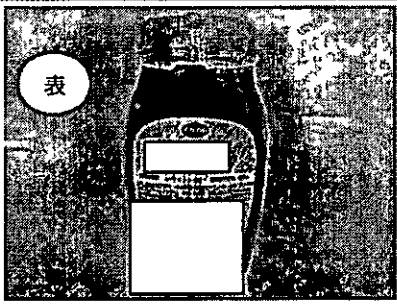
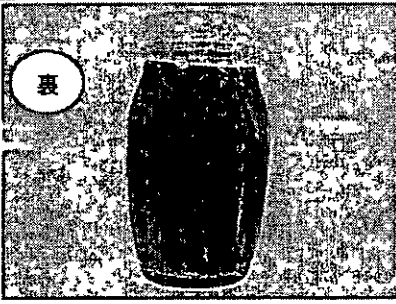
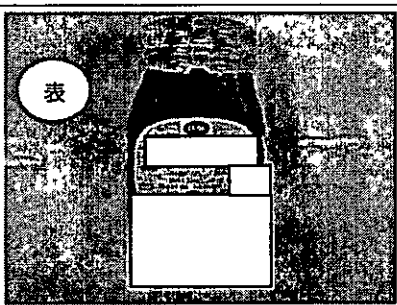
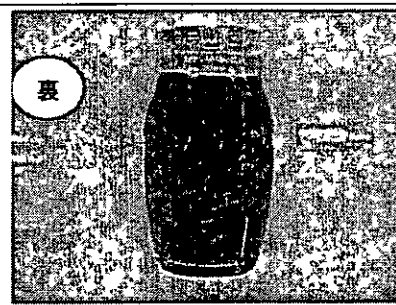
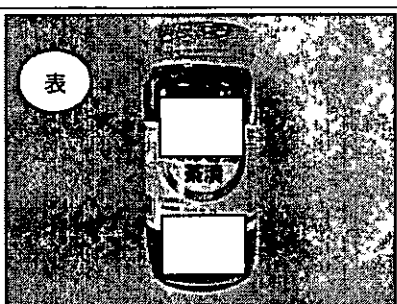
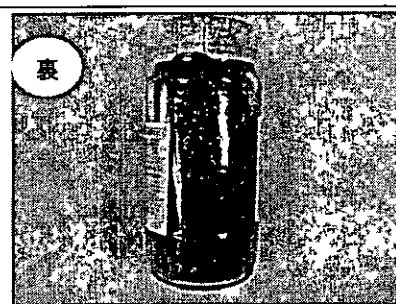
| | | |
|-----------------|-----------|--|
| 品目記号 A-1 竹の子土佐煮 | | |
| 容器 | 透明パウチ(平袋) |  |
| 内容量(g) | 1 000 | |
| 製造年月日 | 2003/7/1 | |
| pH | 5.0 ~ 5.1 | |
| Aw | 0.98 以上 | |
| 品目記号 A-2 竹の子土佐煮 | | |
| 容器 | 透明パウチ(平袋) |  |
| 内容量(g) | 1,000 | |
| 製造年月日 | 2003/7/17 | |
| pH | 5.0 ~ 5.1 | |
| Aw | 0.98 以上 | |
| 品目記号 A-3 竹の子土佐煮 | | |
| 容器 | 透明パウチ(平袋) |  |
| 内容量(g) | 1,000 | |
| 製造年月日 | 2003/11/6 | |
| pH | 5.0 | |
| Aw | 0.98 以上 | |

図 1-2 供試食品の概要 II

| 品目記号 B-1 えのき茸 | | | |
|-------------------|------------------|--|---|
| 容器 | 瓶詰 |  |  |
| 内容量(g) | 120 | | |
| 賞味期限 | 2004/11/27 | | |
| pH | 4.7 | | |
| Aw | 0.97 | | |
| 品目記号 B-2 えのき茸(薄塩) | | | |
| 容器 | 瓶詰 |  |  |
| 内容量(g) | 120 | | |
| 賞味期限 | 2004/10/11&12/17 | | |
| pH | 4.7~4.8 | | |
| Aw | 0.97 | | |
| 品目記号 B-3 えのき茸(茶漬) | | | |
| 容器 | 瓶詰 |  |  |
| 内容量(g) | 220 | | |
| 賞味期限 | 2004/12/11 | | |
| pH | 5.4~5.5 | | |
| Aw | 0.96 | | |