

率に検出された。中国においても食中毒事例の原因となっている場合もあるため、ボツリヌス芽胞汚染の可能性があると考えられた。中国とは気候等も異なることから流通、保存状態の改善、取り扱い方法等を注意することを喚起することが必要である。

「調味料」においては、ペースト状調味料から、好気性芽胞菌数、クロストリジア、*B.cereus* が検出されたが、pH4.6 以下または Aw0.94 以下であり、ボツリヌス芽胞が存在したとしても菌の発育ができない条件であると考えられた。またペースト状以外の調味料からも好気性芽胞菌数が検出され、2 検体中 1 検体は pH4.6 以上、Aw0.98 以上であり、ボツリヌス芽胞が存在した場合、菌の発育し毒素を産生する条件であった。

当研究所が 1998 年～2003 年に調味料 289 検体調べた成績では、瓶詰めのトムヤムペースト（タイ産）から F 型ボツリヌス菌、カレーペースト（インド産）から D 型ボツリヌス菌を検出している。今回の成績からもクロストリジア、好気性芽胞菌ともに検出されており、ボツリヌス菌芽胞の汚染の可能性のある食品と考えられた。

魚加工食品のピクルドグラミーフィッシュはグラミーフィッシュ（淡水食用魚）をライスパウダーと食塩で漬けた食品であるが、クロストリジアが  $10^5$ cfu/g 検出された。細菌数等も  $10^3$ cfu/g 検出されたが、Aw でボツリヌス菌の発育を阻止しているものと考えられた。

他の食品は比較的汚染が少なく、細菌学的汚染が多く認められる食品群と少ない食品群に 2 分される成績であった。

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。生菌数、クロストリジア、好気性芽胞菌、*B. cereus* が検出された検体の多くが Aw0.94 未満であったことから、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なされていないことが示唆された。今回の検査において、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 60 検体（66.7%）あった。その内、生菌数、クロストリジア、好気性芽胞菌、*B. cereus* が検出された検体が 14 件（15.6%）があった。その内訳は、腐乳 4 検体（30.8%）、肉加工食品 5 検体（26.3%）、魚加工食品 2 検体（9.1%）、ザーサイ 1 検

体（33.3%）、調味料 1 検体（12.5%）、野菜加工品 1 検体（9.1%）であった。

クロストリジアが  $1.0 \times 10^0$ cfu/g 以上検出された食品は 90 検体中 10 検体（11.1%）であった。検出されたクロストリジアは、*Clostridium sporogenes*, *Clostridium ramosum*, *Clostridium subterminale*, *Clostridium tertium*, *Clostridium butyricum*, *Clostridium tetani* 等であった。同様に  $1.0 \times 10^1$ cfu/g 以上の好気性芽胞菌が検出されたのは 31 検体（34.4%）であり、芽胞菌に対する十分な加熱がされておらず、加熱に強いボツリヌス芽胞が生残している可能性があることが示唆された。

さらに、今回供試した検体は、直接そのまま喫食する場合もあるが、素材として調理に用いられる食品が比較的多いと推定された。今回の検査で pH または Aw の値がボツリヌス芽胞の発育が抑えられる範囲であっても、それを使った食品の調理後の状態が pH4.6 以上かつ Aw0.94 以上でボツリヌス菌の発育条件が揃えば、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と考えられる。

切り餅のボツリヌス菌芽胞接種実験の結果については、まだ実験継続中であるが 42 日経過した時点ではボツリヌス毒素の産生は認められなかった。クロストリジア数の変化はなく、接種したボツリヌス菌がそのまま生残しているものと考えられた。接種実験の期間は賞味期限（10 ヶ月）の 1.5 倍とされているので、終了予定は 2006 年 4 月末日である。対照群も含めて既に袋の膨張が認められているので経時的にボツリヌス毒素の産生等を調べていく必要があると考えられる。

## E. 結論

エスニック食品中心に輸入容器包装詰低酸性食品 90 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 60 検体（66.7%）認められた。また、クロストリジア陽性は 11.1%、好気性芽胞菌陽性は 34.4%の検体で確認され、その汚染率は食品群により偏りが認められた。発酵食品や多数の香辛料を使用した食品群の芽胞菌汚染が高率であった。以上の成績は、これらの輸入容器包装

詰低酸性食品にはボツリヌス菌芽胞が生残する可能性があり、もし生残した場合、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。これらの輸入食品の流通、販売時の衛生状態は必ずしも良く無く、これまで、流通実態調査及び細菌学的汚染実態調査もほとんどされていなかったため、今後継続的に調査をする必要があると考えられた。

切り餅のボツリヌス菌芽胞接種実験の結果については、まだ実験継続中であるが 42 日経過した時点ではボツリヌス毒素の産生は陰性であった。クロストリジア数の変化はなく、接種したボツリヌス菌がそのまま生残しているものと考えられた。

#### F. 研究発表

準備中

#### G. その他

なし

表1 供試食品

区分	輸入元	包装形態	検体数	小計
魚加工食品	中国	缶詰	6	22
		瓶詰	1	
	韓国	缶詰	7	
	タイ	缶詰	2	
		瓶詰	1	
	モロッコ	缶詰	2	
	インド	缶詰	1	
	スペイン	缶詰	1	
魚類のスープ	中国	缶詰	1	
食肉加工食品	中国	缶詰	5	19
	日本	パウチ (プラスチックバック等)	4	
肉のスープ等	韓国	パウチ (アルミバック等)	8	
		缶詰	1	
	パキスタン	缶詰	1	
腐乳	中国	瓶詰	8	13
	台湾	瓶詰	5	
野菜加工食品	中国	缶詰	7	11
	韓国	瓶詰	1	
	タイ	缶詰	2	
	インド	瓶詰	1	
貝類の加工食品	韓国	缶詰	5	5
調味料	中国	パウチ (プラスチックバック等)	1	7
	台湾	缶詰	1	
調味料 (ペースト)	タイ	パウチ (プラスチックバック等)	2	
	中国	缶詰	1	
		瓶詰	1	
	トルコ	缶詰	1	
豆類加工食品	中国	缶詰	1	4
		瓶詰	1	
	台湾	缶詰	1	
豆類のスープ	中国	缶詰	1	
ザーサイ	中国	パウチ (プラスチックバック等)	3	3
粥	韓国	パウチ (アルミバック)	1	4
		缶詰	1	
	台湾	缶詰	1	
	中国	缶詰	1	
蚕加工食品	韓国	缶詰	2	2
計				90

表2-1 細菌学的検査結果

供試食品名	原産国	包装形態	pH	Aw	SPC(cfu/g)	好芽(cfu/g)	嫌芽(cfu/g)	B.cereus (cfu/g)	ウエルシュ菌(cfu/g)	ポツリヌス菌
＜魚加工食品＞										
魚と豆の油漬け	中国	缶詰	6.0	0.93	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
魚の煮物	中国	缶詰	6.0	0.97	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
エン類の774	中国	缶詰	6.4	0.96	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
うぐいと黒豆の佃煮	中国	缶詰	5.9	0.91	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
魚と菜の揚げ煮	中国	缶詰	6.0	0.97	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
うぐいと黒豆の佃煮	中国	缶詰	5.9	0.9	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
魚の油漬け	中国	瓶	5.3	0.73	1.4×10 <sup>3</sup>	1.0×10 <sup>2</sup>	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
鯖水煮缶詰	韓国	缶詰	5.5	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
魚の味付け加工品	韓国	缶詰	5.4	0.95	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
マグロの油漬け	韓国	缶詰	5.5	0.97	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
マカ 味付け風味缶詰	韓国	缶詰	5.8	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
魚の水煮	韓国	缶詰	6.1	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
さんま缶詰(水煮)	韓国	缶詰	6.1	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
ツナと野菜の油漬け	韓国	缶詰	5.6	0.98以上	1.1×10 <sup>1</sup>	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
いわしトマトソース煮	タイ	缶詰	5.8	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
いわしトマトソース煮	タイ	缶詰	5.9	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
ピカド グラニ-フィッシュ	タイ	瓶	5.2	0.74	4.0×10 <sup>3</sup>	4.4×10 <sup>3</sup>	4.0×10 <sup>5</sup>	4.0×10 <sup>3</sup>	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
カチカチの油漬け(714)	インド	缶詰	5.3	0.73	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
カチカチの油漬け(ロール)	インド	缶詰	5.8	0.73	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
サマのトマト煮	インド	缶詰	5.9	0.96	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
あんこうのきも(水煮)	タイ	缶詰	6.0	0.98以上	10未満	1.1×10 <sup>1</sup>	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
＜魚類のスープ＞										
スッポンのスープ	中国	缶詰	6.7	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—

表2-2 細菌学的検査結果

供試食品名	原産国	包装形態	pH	Aw	SPC(cfu/g)	好芽(cfu/g)	嫌芽(cfu/g)	B.cereus (cfu/g)	ウェルシュ菌(cfu/g)	ポツリヌス菌
＜食肉加工食品＞										
豚の角煮	中国	缶詰	6.2	0.97	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
肉みそ	中国	缶詰	5.5	0.97	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
豚の角煮	中国	缶詰	6.2	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
豚の角煮	中国	缶詰	6.1	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
豚の角煮	中国	瓶	6.4	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
豚の腸詰め	日本	パウチ	5.0	0.98以上	10未満	1.7×10 <sup>2</sup>	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
豚の耳の加工品	日本	パウチ	6.2	0.97	7.2×10 <sup>8</sup>	2.1×10 <sup>2</sup>	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
手羽先の加工品	日本	パウチ	6.2	0.96	7.3×10 <sup>8</sup>	2.6×10 <sup>2</sup>	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
砂肝の加工品	日本	パウチ	6.3	0.96	6.4×10 <sup>8</sup>	7.0×10 <sup>2</sup>	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
＜肉のスープ等＞										
カビタ	韓国	パウチ	6.7	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
ユッケジャン	韓国	パウチ	5.7	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
ユッケジャン	韓国	パウチ	5.6	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
牛頭コムタ	韓国	パウチ	6.3	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
サムゲタ	韓国	パウチ	6.6	0.98以上	10未満	1.1×10 <sup>1</sup>	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
カビタ	韓国	パウチ	5.9	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
鶏のスープ	韓国	パウチ	6.1	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
鶏肉スープ (サムゲタ)	韓国	アルミパック	6.0	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
鶏肉スープ (サムゲタ)	韓国	缶詰	6.4	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
マトンカレー	パキスタン	缶詰	5.6	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—

表2-3 細菌学的検査結果

供試食品名	原産国	包装形態	pH	Aw	SPC(cfu/g)	好芽(cfu/g)	嫌芽(cfu/g)	B.cereus (cfu/g)	ウェルシュ菌(cfu/g)	ポツリヌス菌
麻油白腐乳(ゴマ油入)	中国	瓶	5.8	0.98以上	2.3x10 <sup>4</sup>	5.6x10 <sup>4</sup>	1未満	1.6x10 <sup>3</sup>	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	-
腐乳(バラ入り)	中国	瓶	5.3	0.88	9.3x10 <sup>5</sup>	1.1x10 <sup>6</sup>	3.0x10 <sup>4</sup>	2.0x10 <sup>4</sup>	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	-
臭豆腐	中国	瓶	6.6	0.91	1.8x10 <sup>7</sup>	6.6x10 <sup>6</sup>	1未満	1.4x10 <sup>6</sup>	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	-
腐乳	中国	瓶	5.8	0.87	3.0x10 <sup>6</sup>	1.7x10 <sup>6</sup>	1未満	2.0x10 <sup>2</sup>	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	-
腐乳	中国	瓶	5.9	0.9	1.0x10 <sup>6</sup>	3.8x10 <sup>6</sup>	3.2x10 <sup>2</sup>	5.0x10 <sup>2</sup>	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	-
発酵赤豆腐	中国	瓶	5.9	0.89	1.2x10 <sup>7</sup>	2.7x10 <sup>7</sup>	2.0x10 <sup>1</sup>	1.3x10 <sup>6</sup>	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	-
紅腐乳	中国	瓶	5.5	0.87	9.4x10 <sup>6</sup>	4.4x10 <sup>6</sup>	1未満	5.0x10 <sup>6</sup>	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	-
発酵赤豆腐	中国	瓶	5.8	0.88	4.0x10 <sup>6</sup>	7.0x10 <sup>6</sup>	1未満	1.6x10 <sup>5</sup>	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	-
腐乳(ものみ漬)	台湾	瓶	4.9	0.83	1.6x10 <sup>7</sup>	7.0x10 <sup>6</sup>	1未満	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	-
腐乳 発酵豆腐(もろみ漬)	台湾	瓶	5.0	0.84	9.5x10 <sup>6</sup>	7.8x10 <sup>6</sup>	1.4x10 <sup>3</sup>	7.0x10 <sup>2</sup>	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	-
紅腐乳(発酵赤豆腐)	台湾	瓶	5.7	0.98以上	4.4x10 <sup>3</sup>	2.9x10 <sup>3</sup>	1.3x10 <sup>2</sup>	1.0x10 <sup>2</sup>	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	-
白腐乳 発酵豆腐(白)	台湾	瓶	6.1	0.98以上	1.2x10 <sup>3</sup>	1.9x10 <sup>3</sup>	4.0x10 <sup>2</sup>	2.0x10 <sup>2</sup>	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	-
発酵豆腐(辛口)	台湾	瓶	5.5	0.98以上	9.8x10 <sup>4</sup>	3.8x10 <sup>4</sup>	6.7x10 <sup>1</sup>	2.0x10 <sup>2</sup>	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	-

<腐乳>

<野菜加工食品>

マナゴ-ビケル	インド	瓶	3.0	0.88	10未満	10未満	1未満	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	-
味付ゴマ菜	韓国	缶詰	5.2	0.96	3.0x10 <sup>1</sup>	3.0x10 <sup>1</sup>	1未満	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	-
バナナのつぼみの水煮	タイ	缶詰	4.3	0.98以上	1.1x10 <sup>1</sup>	10未満	1未満	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	-
卵-マスカド'ケリー- 塩水漬	タイ	缶詰	3.6	0.97	10未満	1.1x10 <sup>1</sup>	1未満	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	-
雪菜(からし菜)	中国	缶詰	3.9	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	-
雪菜(からし菜)	中国	缶詰	4.1	0.91	10未満	10未満	1未満	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	-
たけのこのいためもの	中国	缶詰	4.5	0.97	10未満	10未満	1未満	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	-
くわいの水煮	中国	缶詰	5.2	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	-
たけのこの水煮	中国	瓶	3.9	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	-
唐辛子の油漬け	中国	瓶	5.1	0.86	4.8x10 <sup>1</sup>	2.8x10 <sup>1</sup>	1未満	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	-
たけのこの水煮	中国	瓶	4.1	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	1.0x10 <sup>2</sup> 未満	-

表2-4 細菌学的検査結果

供試食品名	原産国	包装形態	pH	Aw	SPC(cfu/g)	好芽(cfu/g)	嫌芽(cfu/g)	B.cereus (cfu/g)	ウエルシュ菌(cfu/g)	ボツリヌス菌
＜貝類の加工食品＞										
つぶ貝缶詰	韓国	缶詰	6.7	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
つぶ貝缶詰	韓国	缶詰	6.8	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
貝の加工品	韓国	缶詰	6.2	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
貝の加工品	韓国	缶詰	6.7	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
貝の加工品	韓国	缶詰	6.5	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
＜調味料＞										
パペキョース	台湾	缶詰	6.2	0.66	5.5×10 <sup>2</sup>	8.4×10 <sup>2</sup>	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
調味料	中国	パウチ	5.2	0.98以上	4.4×10 <sup>1</sup>	4.1×10 <sup>1</sup>	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
＜調味料 (ペースト)＞										
レッドカレーペースト	タイ	パウチ	6.1	0.81	6.4×10 <sup>4</sup>	3.1×10 <sup>4</sup>	1.3×10 <sup>2</sup>	7.0×10 <sup>2</sup>	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
グリーンカレーペースト	タイ	パウチ	5.1	0.84	3.8×10 <sup>4</sup>	4.1×10 <sup>4</sup>	1未満	6.0×10 <sup>2</sup>	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
にらの花みそ	中国	瓶	5.5	0.88	2.0×10 <sup>4</sup>	4.5×10 <sup>4</sup>	2.0×10 <sup>1</sup>	6.0×10 <sup>2</sup>	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
はすの葉の餡	中国	缶詰	5.8	0.92	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
パプリカペースト	トルコ	缶詰	4.0	0.97	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
＜豆類加工食品＞										
落花生の煮物	台湾	缶詰	6.2	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
落花生の加工品	中国	缶詰	6.1	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
落花生の加工品	中国	瓶	5.2	0.46	5.2×10 <sup>3</sup>	1.9×10 <sup>3</sup>	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—
＜豆類のスープ＞										
落花生のスープ	中国	缶詰	6.0	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	—

表2-5 細菌学的検査結果

供試食品名	原産国	包装形態	pH	Aw	SPC(cfu/g)	好芽(cfu/g)	嫌芽(cfu/g)	B.cereus (cfu/g)	ウエルシュ菌(cfu/g)	ポツリヌス菌
ザーサイ	中国	タッバー	4.2	0.97	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	-
ザーサイ(1713)	中国	パウチ	4.4	0.86	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	-
ザーサイ(ホル)	中国	パウチ	5.0	0.76	2.6×10 <sup>2</sup>	5.0×10 <sup>1</sup>	3.0×10 <sup>1</sup>	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	-

<ザーサイ>

<粥>

粥	韓国	缶詰	6.3	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	-
粥	韓国	パウチ	6.5	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	-
粥(豆入り)	台湾	缶詰	6.3	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	-
粥(豆入り)	中国	缶詰	6.5	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	-

<蚕加工食品>

蚕加工品	韓国	缶詰	6.7	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	-
蚕加工品	韓国	缶詰	6.7	0.98以上	10未満	10未満	1未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	1.0×10 <sup>2</sup> 未満	-



## 「切り餅」のボツリヌス芽胞接種試験

表3-1. 接種混合芽胞液の芽胞数

混合芽胞液の芽胞数			
(cfu/ml)	(cfu/20 $\mu$ l)		
$2.4 \times 10^7$	$5.2 \times 10^5$	$6.3 \times 10^5$	$6.5 \times 10^5$

表3-2. 未開封 ボツリヌス芽胞未接種「切り餅」菌数測定結果

	Aw	pH	SPC(cfu/g)	Clo(cfu/g)*
未開封品 1	0.98以上	7.0	10未満	1未満
未開封品 2	0.98以上	7.0	10未満	1未満
未開封品 3	0.98以上	7.0	10未満	1未満
未開封品 4	0.98以上	7.0	10未満	1未満
未開封品 5	0.98以上	7.0	10未満	1未満

\* Clostridium 属菌数 (cfu/g)

表3-3. ボツリヌス芽胞接種試験初発菌数測定結果

区分	No.	恒温放置開始時測定		
		pH	SPC(cfu/g)	Clo(cfu/g)*
DW接種	1	6.0	10未満	10未満
(対照)	2	6.0	10未満	10未満
	3	6.0	10未満	10未満
ボツリヌス菌接種	1	6.1	10未満	$2.2 \times 10^4$
	2	6.1	10未満	$2.4 \times 10^4$
	3	6.0	10未満	$2.4 \times 10^4$

\* Clostridium 属菌数 (cfu/g)

表3-4. ボツリヌス芽胞接種「切り餅」菌数測定結果：接種42日目

	袋の膨張	SPC(cfu/g)	Clo(cfu/g)*	ボツリヌス毒素
芽胞接種開封品 1	(+)	10未満	$1.5 \times 10^4$	(-)
芽胞接種開封品 2	(+)	10未満	$2.2 \times 10^4$	(-)
芽胞接種開封品 3	(+)	10未満	$2.2 \times 10^4$	(-)
芽胞接種開封品 4	(+)	10未満	$1.0 \times 10^4$	(-)

\* Clostridium 属菌数 (cfu/g)

## 2. ボツリヌス芽胞接種試験 (途中成績)

検体 : 切り餅

## 接種混合芽胞液の芽胞数

混合芽胞液の芽胞数			
(CFU/ml)	(CFU/20 $\mu$ l)		
$2.4 \times 10^7$	$5.2 \times 10^5$	$6.3 \times 10^5$	$6.5 \times 10^5$

## ボツリヌス菌接種試験初発菌数測定結果

区 分	No.	恒温放置開始時測定		
		pH	好気性細菌数	<i>Clostridium</i> 属細菌数
			(CFU/g)	(CFU/g)
DW接種	1	6.0	< 10	< 10
(対照)	2	6.0	< 10	< 10
	3	6.0	< 10	< 10
ボツリヌス菌接種	1	6.1	< 10	$2.2 \times 10^4$
	2	6.1	< 10	$2.4 \times 10^4$
	3	6.0	< 10	$2.4 \times 10^4$

## ボツリヌス菌非接種未開封きり餅菌数測定結果

	Aw	pH	SPC(cfu/g)	Clo(cfu/g)*
未開封品 1	0.98以上	7.0	10未満	1未満
未開封品 2	0.98以上	7.0	10未満	1未満
未開封品 3	0.98以上	7.0	10未満	1未満
未開封品 4	0.98以上	7.0	10未満	1未満
未開封品 5	0.98以上	7.0	10未満	1未満

\* *Clostridium* 属細菌数 (cfu/g)

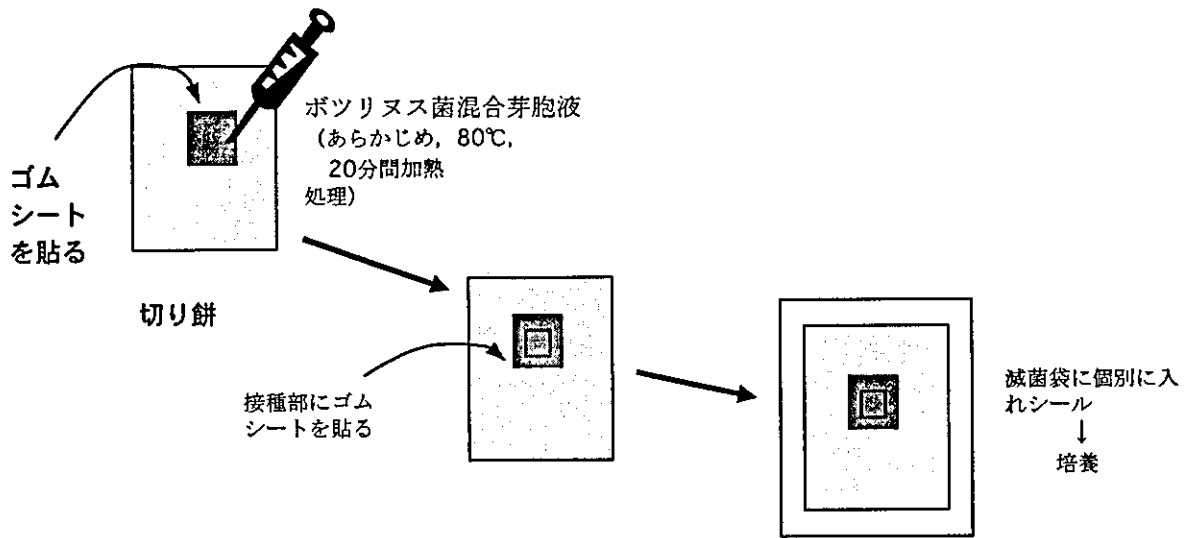


図1 ボツリヌス菌芽胞接種方法

図2-1 供試食品



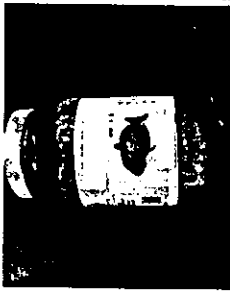
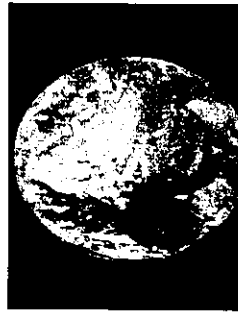
魚の加工食品：魚と菜の揚げ煮



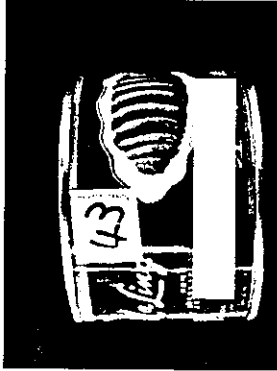
スツポンのスープ



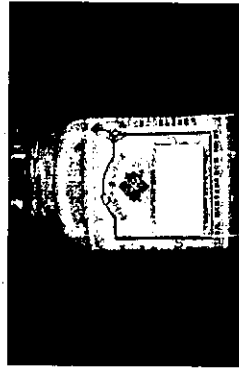
肉加工食品：鶏肉のスープ



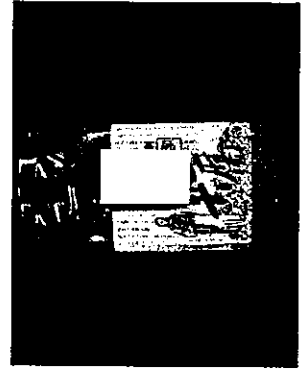
魚加工食品：ピクルドグラミーフィッシュ



肉加工食品：豚の角煮



腐乳：麻油白腐乳



腐乳：臭豆腐

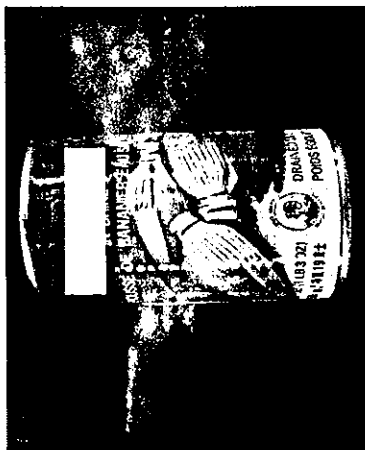


腐乳：紅腐乳

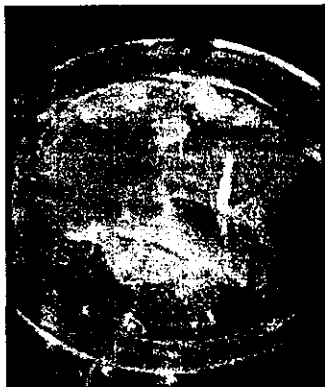


写真左：全体  
写真右：中身

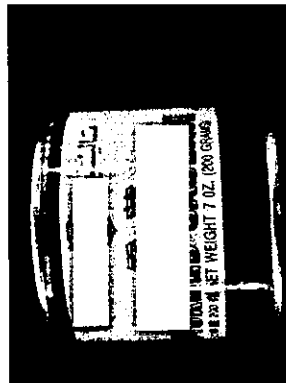
図2-2 供試食品



野菜加工食品：  
バナナのつぼみの水煮



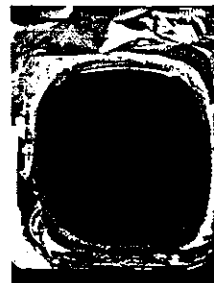
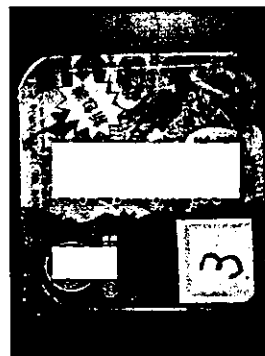
野菜加工食品：  
たけのこの水煮



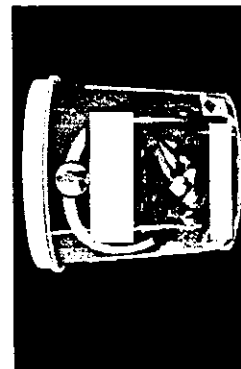
野菜加工食品：菅葉（からし菜）



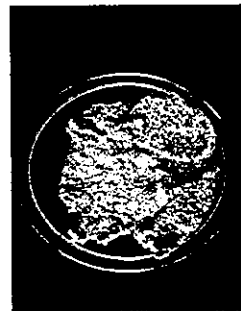
貝類の加工食品：  
つぶ貝缶詰



調味料

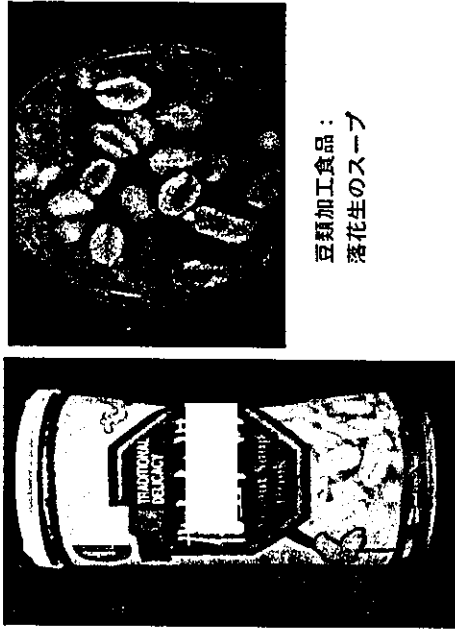


調味料（ペースト）：  
グリーンカレーペースト



写真左：全体  
写真右：中身

図2-3 供試食品



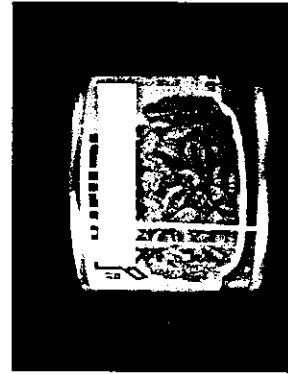
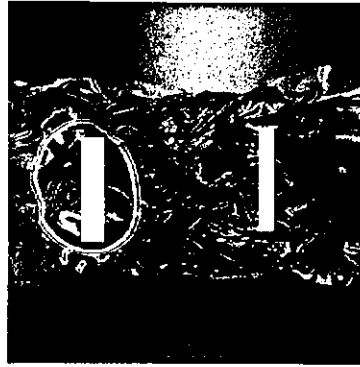
豆類加工食品：  
落花生のスープ



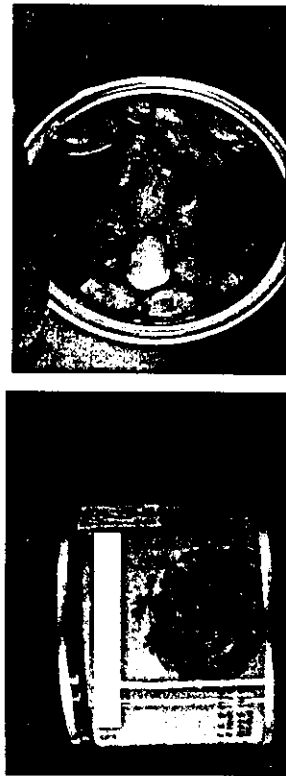
ザーサイ (ホール)



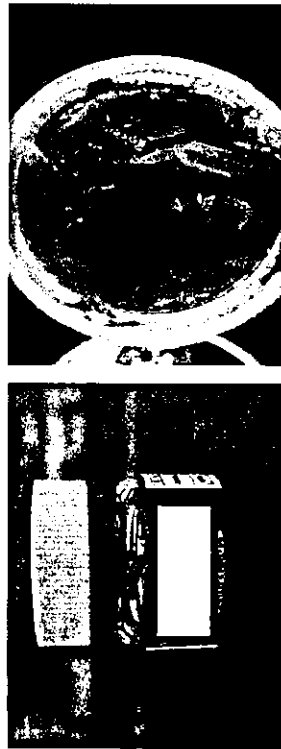
蚕加工食品



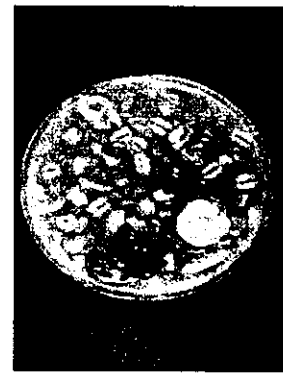
写真左 : 全体  
写真右 : 中身



豆類加工食品：落花生の加工品

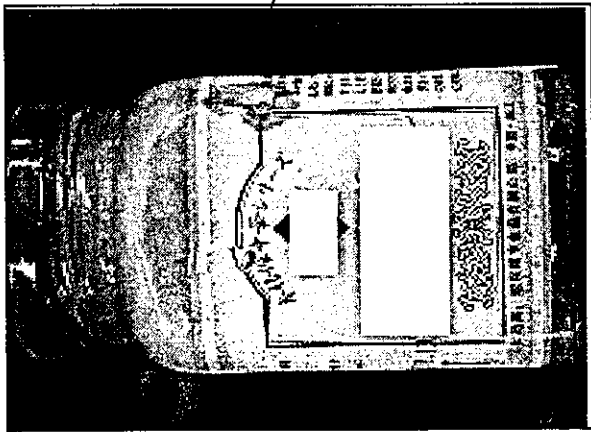


ザーサイ

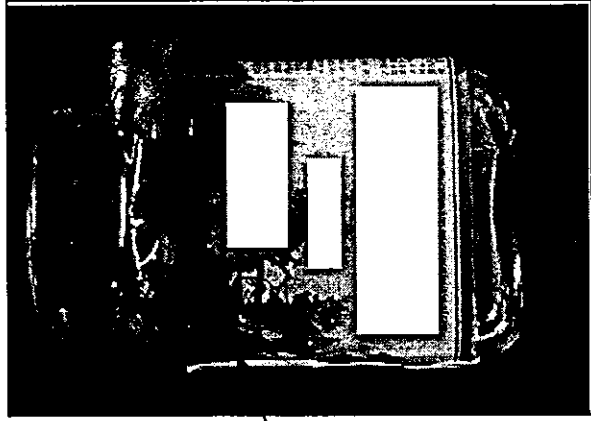


粥 (豆入り)





腐乳 A



腐乳 B

液もれ部分

図 3 試験開始時に液もれが認められた食品

## 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

漬物(古漬類)および生菓子(ゼリー)の理化学的・微生物学的試験および接種培養試験

分担研究者 石村勝之 広島市衛生研究所 生物科学部  
研究協力者 萱島隆之 広島市衛生研究所 生物科学部

### 研究要旨

容器包装詰低酸性食品のボツリヌス菌食中毒に対するリスクを評価するため、今年度は漬物(古漬)60 検体と生菓子(ゼリー) 25 検体について理化学的・微生物学試験を実施するとともに、ボツリヌス菌芽胞接種試験を、水分活性(Aw)0.94 以上かつ pH4.6 以上の理化学的性状の漬物(しょうゆ漬) 2 品目およびゼリー(コーヒーゼリー) 1 品目について芽胞接種検体各 30 検体として 30℃で培養試験を行った。

理化学的・微生物学試験に供した漬物(古漬)は、Aw が 0.89~0.98 以上の範囲で、88%は 0.94 以上の Aw を示した。pH は 3.4~5.2 で、48%は 4.6~5.2 を示したが、総じて低い pH であった。Aw0.94 以上かつ pH4.6 以上のボツリヌス菌増殖可能な理化学的性状のものは 24 検体(40%)認められた。その微生物学的試験の結果は、ボツリヌス菌(毒素)はすべての検体から検出されなかったが、クロストリジアが 26 検体(43%)に認められ、その汚染菌数は 1 cfu/g 未満~18 cfu/g であった。検討できた分離菌 20 株は、その 16S rDNA 塩基配列の相同性解析結果から、すべて *Clostridium* spp.と推定されたが、その配列の多くは互いに異なった。なかには *C. argentinense* や *C. subterminale* に高い相同性を示す菌株がみられたが、マウス毒性は認められなかった。生菌数は 10cfu/g 未満~10<sup>4</sup>cfu/g、好気性芽胞数は 10cfu/g 未満~10<sup>2</sup>cfu/g であった。一方、ゼリーについては、店頭ではフルーツ系ゼリーが多くみられ、その Aw は 0.97~0.98 以上の高い値であったが、pH は 3.6~4.1 の低 pH を示し、ボツリヌス菌増殖域外の値であった。

接種試験の結果は、しょうゆ漬 2 品目(Aw0.97, pH4.7 および Aw0.97, pH4.9)の芽胞接種検体各 30 検体とも、90 日後までガス膨張はみられず、菌増殖およびボツリヌス毒素の産生も認められなかった。栄養型菌混合液を接種した系でも、ボツリヌス菌の増殖および毒素産生を認めなかった。一方、供試コーヒーゼリーは、pH が 4.7 ないし 5.5 付近の 2 種類を認めたが、いずれも培養 75 日目までガス膨張は認められず、菌増殖およびボツリヌス毒素の産生も認められなかった。

以上の結果から、今回供試した漬物(古漬)およびゼリーは、pH や塩分濃度等の理化学的特性のコントロールにより芽胞の発芽・増殖を抑制し、リスクの低減が図られた食品と考えられた。

### A. 研究目的

容器包装詰低酸性食品のボツリヌス菌食中毒に対するリスクを評価することを目的に、平成 16 年度は、各種存在する食品類のうち、漬物(古漬)および生菓子(ゼリー)について検討するため、市販品の理化学的・微生物学的試験による汚染調査および芽胞接種試験を実施した。

### B. 研究方法

#### 1. 店頭調査および試験品採取

広島市内およびさいたま市内の販売店(スーパーおよび百貨店)を訪問し、店頭において販売されている漬物類およびゼリーについて、その販売形態などを調査するとともに、賞味期限が長く、

保存方法が室温とされている品目(漬物 59 品目 60 検体、およびゼリー 25 検体)計 85 検体を購入し、理化学および微生物学的試験の対象食品とした(図 1、図 2)。

#### 2. 購入食品の理化学的・微生物学的試験

無菌的に開封した製品内容物全量を用い、平成 15 年度の主任研究者総括研究報告書に記載された研究班統一の方法により、pH 及び Aw の理化学項目および生菌数、好気性芽胞数、クロストリジア数、ボツリヌス菌(毒素定性試験)の微生物学的項目を試験検討した。

#### 3. クロストリジア培地黒色集落の 16S rDNA 配列の決定・相同性解析

クロストリジア培地に発育した黒色集落を



GAM 寒天培地（日水製薬）により純培養し、PrepMan Ultra Reagent(Applied Biosystems) で DNA を抽出した。その DNA について、MicroSeq®500 16S rDNA PCR Kit(Applied Biosystems)を用いて 16S rDNA 塩基配列領域を PCR 増幅した。Amplicon に対して MicroSeq®500 16S rDNA Sequencing Kit

(Applied Biosystems)を用いてシーケンス反応を行い、その塩基配列を Genetic Analyzer 310 Prism (Applied Biosystems) により解析決定した。その配列について Genetyx- Mac/DB(ソフトウェア開発株式会社)を用いて Database 検索し、高い相同性を示す菌を選択した。

#### 4. クロストリジア培地黒色集落のマウス毒性試験

純培養された黒色集落形成菌をクックドミート培地(Difco)10ml に接種し、30℃で 7 日間、ガスパック (BD) にて嫌気培養した後、その培養液の遠心上清 0.5ml を ddY 系雄マウス 2 匹の腹腔内に接種し、4 日間その斃死の有無を観察した。

#### 5. 漬物およびゼリーのポツリヌス菌芽胞接種培養試験

漬物については、理化学的・微生物学的試験の結果から、Aw および pH の両値がポツリヌス菌の発芽増殖が可能な範囲にある 2 品目を選定し、製造業者より各 45 検体計 90 検体の製品を取り寄せ、ポツリヌス菌の接種培養試験に供した。ゼリーについては、厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課の依頼により全日本菓子協会を選定された Aw および pH がポツリヌス菌増殖可能域にあるコーヒーゼリー 1 品目 50 検体を供した。

漬物は、広島市衛生研究所から 2 品目 72 検体を、コーヒーゼリーは全日本菓子協会を通じて 1 品目 50 検体を日本缶詰協会研究所に送付し、ポツリヌス菌芽胞液の接種を行った。送付した検体には、1 品目あたり、あらかじめ 80℃、20 分間加熱処理した芽胞液 (A 型: 62A ATCC, 62A NFPA, 36A ; B 型: 213B, Okra) 20  $\mu$  l を 33 検体に接種した。対照として滅菌 DW20  $\mu$  l を 6 検体に接種し (図 3)、芽胞液接種検体 30 検体および対照 3 検体は直ちに広島市衛生研究所へ搬送した。それらは 30℃のフラン器内で培養し、漬物は 90 日間、コーヒーゼリーは 30 日間および 75 日間ガス産生による膨張を指標として経時的に観察を行った。缶詰協会研究所では、芽胞接種検体作製後直ちに芽胞接種検体 3 検体および DW 接種対照品 3 検体を開封し、その pH、Aw、および生菌数、クロ

ストリジア数を測定した。

試験方法は、芽胞接種検体数を 30 検体に増やしたこと、芽胞混合液を上記の菌株構成に変更したことを除き、平成 14 年度の方法により行った。

なお、試験に供試した漬物 2 品目 (図 4、図 5) およびゼリー 1 品目 (図 6) の表示は以下のとおりである。

漬物 A (しょうゆ漬) ~ザーサイ、原材料: ザーサイ、漬け原材料 (しょうゆ、アミノ酸液、砂糖、ラー油、ごま油、食塩、醸造酢、発酵調味料、香辛料、調味料、酸味料、着色料、漂白剤 (亜硫酸塩)、原材料産地名: 中国、内容量 180g、賞味期限(未開封)05. 3. 1、保存方法: 直射日光、高温多湿を避けて保存してください。

漬物 B (しょうゆ漬) ~きゅうり、原材料: きゅうり、しょうが、しその実、ごま、漬け原材料 (しょうゆ、食塩、醸造酢、香辛料、調味料、酸味料、着色料、酸化防止剤、原材料産地名: 中国、内容量 180g、賞味期限(未開封)05. 1. 16 K、保存方法: 直射日光、高温多湿を避けて保存して下さい。

生菓子 (コーヒーゼリー) ~菓子、原材料: 果肉、砂糖、洋酒、ゲル化剤 (増粘多糖類)、内容量 60g、賞味期限 50 日、保存方法: 高温多湿を避けて冷暗所に保存して下さい。

#### 6. 漬物へのポツリヌス菌栄養型菌の接種培養試験

芽胞接種試験に供した漬物 2 品目については、栄養型菌の発育が可能なかを評価するため、ポツリヌス菌栄養型菌の接種試験を行った。

試験方法は、A 型・B 型ポツリヌス菌芽胞混合液を 80℃、20 分間加熱後 GAM 寒天培地で 30℃嫌気培養し、約 10<sup>9</sup> cfu/g になるように希釈した菌液を、検体に接種し、30℃、20 日間嫌気培養した。培養期間終了後、クロストリジア数 (ポツリヌス菌数)、毒素産生、嫌気性芽胞数を測定した。嫌気性芽胞数は、80℃、20 分間加熱試料におけるクロストリジア数とした。

### C. 研究結果

#### 1. 販売店における店頭調査および試験品の採取

広島市およびさいたま市内の販売店 (スーパーおよび百貨店) において販売されていた漬物は、浅漬け類は、概ね冷蔵陳列棚の下棚で販売され、古漬類も、包装袋には高温多湿を防ぐかたちで室温での保存を示唆する表示がなされているが、冷蔵陳列棚の上棚において冷蔵販売されているもの

が多くみられた。

販売されている漬物の種類は、しょうゆ漬が最も多くみられ、たくあん漬などの糠漬、らっきょうなどの酢漬、奈良漬などの粕漬等が容器包装詰形態(図 1)で多種類販売されていた。消費(賞味)期限は、浅漬類は冷蔵下で数日以内となっていたが、上記の古漬類は、2ヶ月から3ヶ月のものが多くみられた。

一方、容器包装詰されたゼリー類は、室温販売されているものがほとんどであり、種類としてはオレンジ、りんご、ぶどう等、フルーツ系のものがほとんどであった。それらは、成分としては、酸味料などの pH 調整剤が加えられているものが多く、賞味期限は、室温冷暗所で3~4ヶ月と長期なものが多くみられた。

## 2. 漬物(古漬)の理化学的・微生物学的試験結果

市販漬物 59 品目 60 検体の試験結果を表 1 に示した。それらの理化学的試験結果は、Aw が 0.89~0.98 以上の範囲にあり、88%は 0.94 以上の Aw を示した。pH は 3.4~5.2 で、48%は 4.6~5.2 を示した。Aw0.94 以上かつ pH4.6 以上のボツリヌス菌増殖可能域の理化学的性状を示す検体は 24 検体(40%)認められた。一方、それらの微生物学的試験の結果は、ボツリヌス毒素はすべての検体から検出されなかったが、クロストリジアが 26 検体(43%)に認められた。その汚染菌数は 1 cfu/g 未満~18 cfu/g で、 $10^2$ cfu/g 以上の菌数汚染のものは認められなかった。

生菌数は、10cfu/g 未満~ $10^4$ cfu/g、好気性芽胞数は、10cfu/g 未満~ $10^2$ cfu/g であった。

## 3. 漬物由来クロストリジアの相同性検索およびマウス毒性試験結果

漬物から分離されたクロストリジア培地上で黒色集落を形成する 20 菌株は、16S rDNA の部分的塩基配列を決定し、それに基づく相同性検索の結果、類似する配列が複数検索される菌株も多いものの、すべて *Clostridium* 属菌が選択されたことから、総合的にみて *Clostridium* spp. と判断した。なかには、*C. subterminale* や *C. argentinense*、*C. glycolinum* などと 99%以上の相同性の菌株が認められ、それらはその菌種名を採用した。しかし、いずれの菌株も培養上清にはマウスを致死させる毒性は認められなかった(表 2)。

一方、予備的に行った系統樹解析の結果では、配列の類似性により複数の分枝がみられ、系統的

に異なる菌(複数の菌種)が多いことが示唆された。

## 4. ゼリーの理化学的試験結果

広島市内の店頭で購入したゼリーは、Aw は 0.97~0.98 以上の高値であったが、pH は 3.6~4.1 と低 pH を示し、すべてボツリヌス菌の増殖範囲外の値を示した(表 3)。

## 5. ボツリヌス菌芽胞および栄養型菌の接種培養試験

接種試験の結果は、しょうゆ漬 2 品目(pH4.7 および pH4.9)各 30 検体とも、90 日後までガス膨張は認められず、菌の増殖およびボツリヌス毒素の産生も認められなかった(表 4、表 5)。一方、栄養型菌を接種した漬物についても、ボツリヌス菌の増殖およびボツリヌス毒素の産生は認められなかった(表 7)。

一方、コーヒーゼリーは芽胞接種直後および培養開始当初の試験において pH4.7 の柔らかいゲルの検体と pH5.5 の硬い検体の 2 種類が混在していた。芽胞接種 30 検体は培養 30 日目まで、すべての検体ともガス膨張は認められず、そのうち無作為に開封試験した 5 検体は、ボツリヌス毒素非産生であった。また、残り 25 検体は培養 75 日後に開封したが、この時点においてもガス膨張は認められず、ボツリヌス毒素非産生であった(表 6)。これらの検体のクロストリジア数は、30 日後では、柔らかいゲルの 4 検体は当初接種芽胞数の  $10^3$ cfu/g であったが、硬いゲルの 1 検体は  $10^2$ cfu/g を示した。一方、75 日後では、全検体ともゲルの軟化・液状化が認められた。pH5.4 を示した 3 検体のクロストリジア菌数は 10cfu/g 未満に減少した。一方、pH5.0 を示した 22 検体も  $10^1$ cfu/g~ $10^2$ cfu/g に減少し、ボツリヌス菌の増殖は認められなかった。生菌数はすべて 10cfu/g 未満であった(表 6)。

## D. 考察

常温で長期間流通している容器包装詰食品は、理論的にボツリヌス食中毒発生の可能性が懸念される食品群である。従って、その製造・流通実態を調査し、それらの食品の理化学的性状とボツリヌス菌やその他の微生物学的汚染状況を把握し、科学的根拠に基づいた適切なリスクアセスメントを行うことは、わが国における当該食品の安全性を確保する上で必須である。このことから、本研究班では 14 年度は 100℃以上の温度域で加熱殺菌する加圧加熱食品の評価を目的に、15 年度は、100℃以下の加熱温度で殺菌し、常温流通してい

る食品の評価を行うことを主目的として、全国的に販売・流通する食品と地方の地場産品の両面を対象として行った。今年度はさらに範囲を広げ、当所は、漬物ならびにゼリーについての評価を分担検討した。

野菜を主原料とした漬物は、わが国においては、平安時代以前の古くから伝統的な発酵食品として、栄養価が高く、保存性もある食品として発展し、今日では全国に600種類くらいのさまざまな漬物があるとされている。最近では、漬物由来の乳酸菌などが産生するペプチドないしたんぱく質性の抗菌物質、バクテリオシンにも注目が集まっている。平成12年の生産量は、約117万6千トン、出荷額6,000億円にのぼる。それらを、漬け込み時間の長短によって大別すると、当座漬（浅漬）、一夜漬、早漬などの短期なもの、古漬、老漬などの長期なものがあり、浅漬などは、その品質が長期間は保てないことから、現在は消費期限を冷蔵で数日のものとして流通しているのが通例である。一方、古漬類としては、近年では調味液の味が主体となる漬物として、しょうゆ漬、酢漬、味噌漬、粕漬など、発酵性の低い漬物が多く生産されており、なかでも、しょうゆ漬は年間約52万6千トンと最も多く生産され、野菜・果物類の漬物の約44%を占めている。これらは、広域販売、長期保存を可能とするため、食品工業システム的に生産されるものが多い。加熱殺菌については、容器包装に充てん後加熱殺菌するものにあつては、カビ、酵母等による腐敗を防止するため、65°で10分間、又はこれと同等以上の効力を有する方法で殺菌することが、昭和56年9月24日付、環食第214号「漬物の衛生規範について」に定められている。このことから、加熱殺菌を65℃から80℃程度で行い、室温で長い賞味期限を設定してある製品が多数みられる。今回の調査からも多種類の漬物が室温長期流通している状況が伺えた。一方、健康志向から、製品の低塩化を志向する製品開発の波も加速している。従って、ボツリヌス菌食中毒発生に関する本研究の趣旨から考えて、容器包装詰め形態で室温流通している漬物類についても、そのリスクを評価しておくことは必要と考えられた。

今回の漬物59品目60検体の調査では、ボツリヌス毒素およびボツリヌス菌を検出・分離した検体は認められなかった。しかし、その他の*Clostridium*属菌が、低菌数ながら、43%から分離されたことから、原材料の野菜またはその他の漬

け原材料あるいは製造過程から汚染混入した各種の*Clostridium*属菌芽胞が、加熱殺菌工程後の製品においても生残していたと考えられる。この結果は、ボツリヌス菌芽胞の汚染があつた場合も最終製品での生残を示唆しており、その意味においてボツリヌス菌食中毒のリスクが存在する。しかし、今回の漬物への芽胞接種試験においては、AwおよびpHの理化学値がボツリヌス菌増殖限界に近いとはいえ増殖可能域にあるにもかかわらず、芽胞の発芽・増殖が90日間認められなかった。また、栄養型菌を接種した系でも増殖は認められなかった。

小崎らは、本研究班の分担研究の中で*C.botulinum* 62A、36A、およびRenkon株などのA型菌は、PYG培地中でpH4.8まで発育および毒素産生することを認めている。今回調査した市販品の40%はAwおよびpHの値からボツリヌス菌増殖可能域にあるものの、総じてpHが5.0付近の低いpHにある。これらのことから、漬物の多くは、主にpHによる発芽・増殖抑制に加え、その他の要因（食品成分、添加物、場合によってはバクテリオシンなど）の相乗的な阻害がボツリヌス菌芽胞の発芽・増殖に対する抑制ハードルをなしていると考えられる。従って、容器包装詰め漬物（古漬）におけるボツリヌス菌芽胞の潜在的汚染というハザードは存在するものの、その多くの品目ではボツリヌス食中毒の発生リスクは低いものと推察される。しかし、複雑な加工食品マトリクス内での理化学的境界域におけるI群ボツリヌス菌の挙動を、高い精度で予測可能とするパラメーターが確立されていない現在では、境界域にある食品群の個々の食品のリスクについては、芽胞接種試験という試験検査的判定手段が、当該食品中での本菌のリスクを総合的に判断する上での有力な根拠手段として必要とされる。従って、理化学的境界域付近の食品に対して、そのリスクを評価するために実施する接種試験法においては、採用する菌株の選定やその実施方法は大変重要である。

菓子の中で、ゼリーは、夏場の贈答品や冷果として多く製造されている。特に、容器包装詰めされた形態のものは、長期保存が可能とされ、年間を通して店頭販売されている。広島市内の調査では、調査したのが夏場であつたこともあり、内容物がフルーツ系であるゼリーが多く認められた。洋生菓子店でのものと異なり、スーパーの店頭や百貨店での贈答品売り場等で販売されているものは、容器包装に詰められ、冷暗所保存下での賞味

期限が数ヶ月と長いものが多くみられた。それらは、Aw は高い値であったが、pH はすべて 4.6 未満であり、基本的にボツリヌス菌は発育できない食品環境にあると考えられた。一方、ゼリーには、製造量はフルーツ系には劣るが、コーヒーゼリーがある。今回、厚生労働省の協力要請により、全日本菓子協会から提供されたコーヒーゼリー 1 品目を芽胞接種培養試験に供した。このゼリーは、作製時の不備からゼリーの硬度に違いがみられ、その pH も柔らかい検体は pH4.7、硬い検体は pH5.5 との違いが認められた。しかし、このような食品が実際に製造販売される事態を想定し、試験を続行した。その結果、培養開始から 75 日経過時においても、ガス膨張は全検体に認められず、ボツリヌス毒素の産生およびボツリヌス菌数の増加も認められなかった。むしろ、この品目では、クロストリジア菌数の減少がみられた。従って、今回供試した生菓子のコーヒーゼリーにおいても、Aw および pH の値からは理論的にはボツリヌス菌が増殖可能な検体も存在することも考えられたが、今回の試験においては、増殖およびボツリヌス毒素の産生は認められなかった。

以上、今回調査検討した漬物、およびゼリーにおいては、pH が 3.3~5.2 の低 pH にあり（調整されており）、増殖可能域にあるものでも増殖境界値とされる pH 4.6 に近いものであった。一方、増殖可能域の理化学値にあることから選定した 3 品目各 30 検体の接種試験では、菌の発芽・増殖、毒素産生の認められる検体は認められなかった。この結果から、平成 14 年に検討した加圧加熱殺菌食品で認められた高い発芽・増殖性とは異なるものであり、これらの食品類の微生物学的制御が、高温加熱殺菌によるものではなく、その食品特性を維持するために、主として 100℃以下のマイルドな加熱殺菌による物理学的ハードルに加えて、pH、塩分濃度等の各種の理化学的ハードルにより行われていると考えられた。このような食品群のボツリヌス食中毒発生のリスク評価は重要な課題であり、今後、その評価方法、評価基準の確立が重要と考えられる。

## E. 結論

今年度は、容器包装詰され、室温販売されている漬物およびゼリーのリスク評価を分担検討した。調査の結果、市販品の理化学的特性として、pH がボツリヌス菌の増殖境界値以下あるいは境界値付近の検体が多く認められた。一方、微生物学的

試験結果では、供試した漬物 60 検体からボツリヌス菌は分離されなかったが、低菌数ながらクロストリジアが 26 検体(43%)から検出された。フルーツ系ゼリーは pH4.6 未満の低 pH を示した。漬物 2 品目およびコーヒーゼリー 1 品目への接種試験では、I 群ボツリヌス菌の発芽・増殖および毒素産生する検体は認められなかった。

## F. 研究発表

### 論文発表

石村勝之 他：中国・四国地方における容器包装詰低酸性食品製造実態調査とボツリヌス食中毒に対するリスク評価，広島市衛生研究所年報，23，49-54(2004)

## G. 知的所有権の取得状況

該当なし