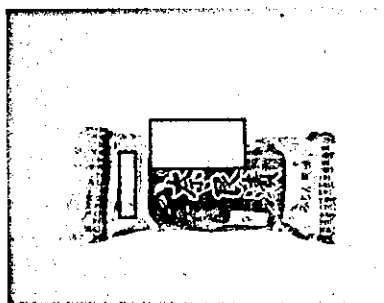
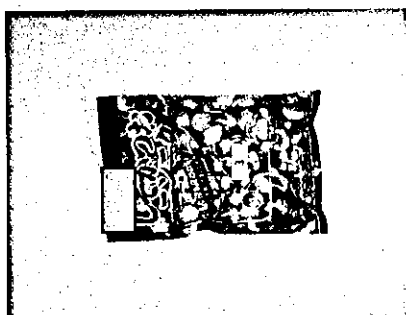


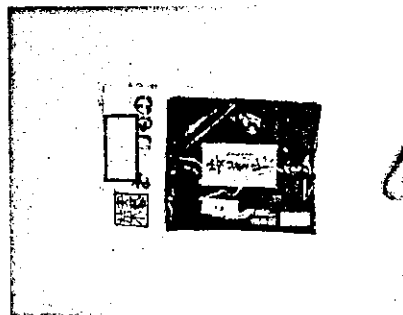
No. 2 しょうゆ漬(山くらげ)



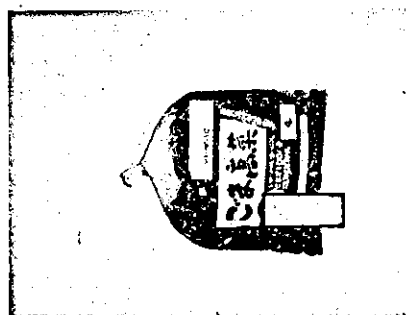
No. 12 粕漬(奈良漬)



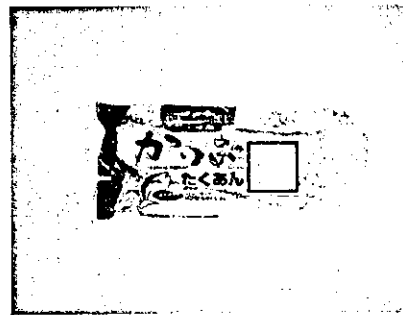
No. 3 酢漬(ニンニク)



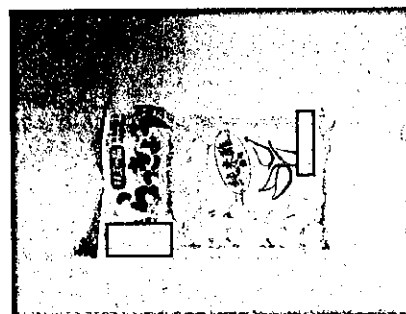
No. 13 しょうゆ漬



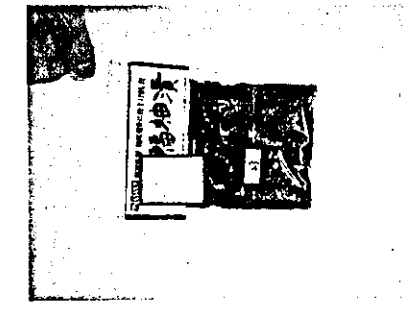
No. 4 しょうゆ漬(高菜)



No. 15 めか漬(たくあん漬)



No. 11 塩漬(らっきょう)



No. 23 しょうゆ漬(福神漬)

図1 市販されている漬物(検体の一部抜粋)
(No.は表1のNo.)

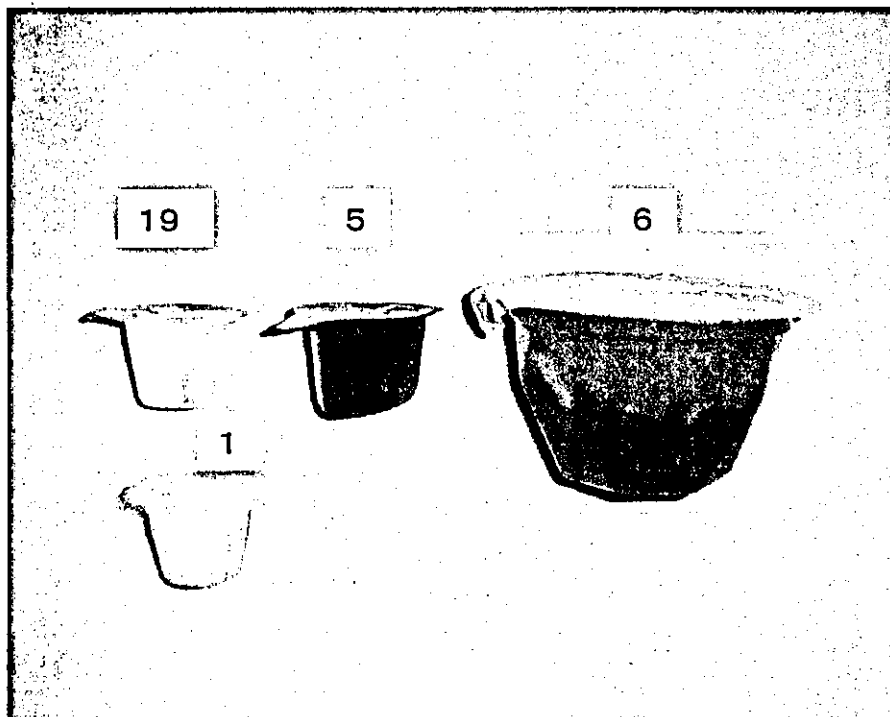
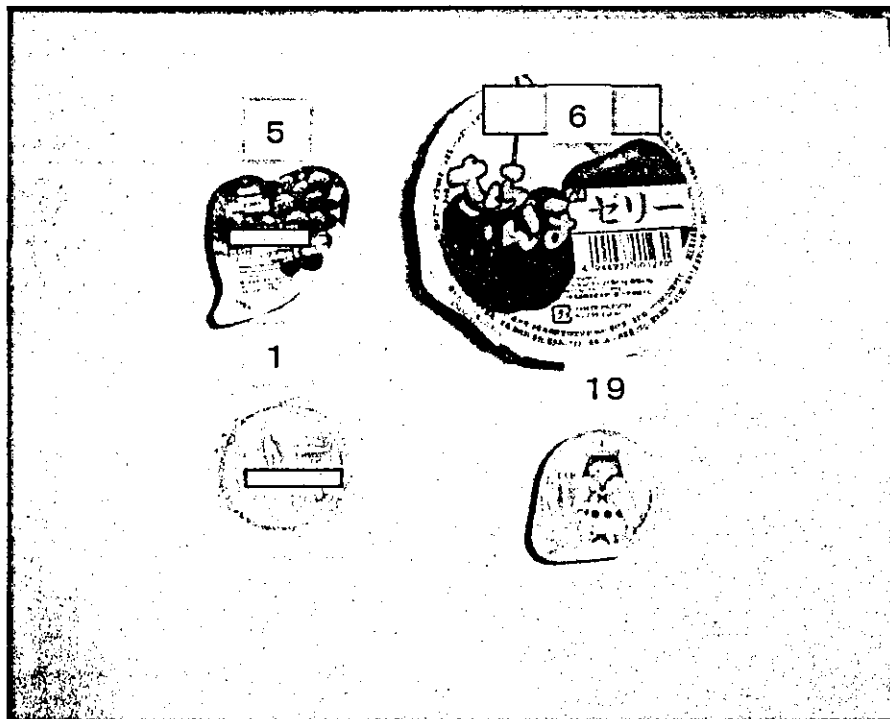


図2 市販されているゼリー(検体の一部抜粋)
(No.は表3のNo.)

表1 市販漬物の理化学的・微生物学的試験結果

No.	名称	品名	賞味期限	製造所所在地	pH	Aw	spc/g	好気芽胞数/g	クロストリジア数/g	ポツリヌス	備考
1	ししょうゆ漬	ザーサイ	04.9.22	群馬県	5.0	0.96	10	10未満	1未満	(-)	保存料なし
2	ししょうゆ漬	山くらげ	04.9.17	東京都	4.8	0.96	30	10未満	1	(-)	保存料なし
3	酢漬	しそかつおニンニク	04.10.2	新潟県	3.7	0.97	10未満	10未満	1未満	(-)	保存料なし
4	ししょうゆ漬	ごま高菜	04.8.22	大分県	5.0	0.98以上	2.4x10 ⁴	3.0x10 ²	1	(-)	保存料なし
5	ししょうゆ漬	さゆり	04.8.16	愛知県	4.9	0.97	10	10未満	1未満	(-)	保存料なし
6	ふくじん漬	特級福神漬	04.9.28	愛知県	4.5	0.93	10未満	10未満	1未満	(-)	保存料なし
7	福神漬	福神漬	04.10.29	福岡県	4.5	0.97	10未満	10未満	1	(-)	soK
8	ししょうゆ漬	刻みつぼ漬	04.10.15	福岡県	4.2	0.97	10未満	10未満	1未満	(-)	soK
9	ししょうゆ漬	青かつぼ漬	04.10.15	福岡県	4.8	0.98	10	10未満	1	(-)	soK
10	ししょうゆ漬	樽出し本漬野沢菜	04.10.10	長野県	4.9	0.97	2.2x10 ²	10未満	1	(-)	soK
11	酢漬	珠玉一品らっきょう	04.12.01	鳥取県	3.6	0.97	50	10未満	1未満	(-)	保存料なし
12	なら漬	なら漬	04.10.20	神戸市	5.0	0.91	3.4x10 ⁴	1.2x10 ²	18	(-)	保存料なし
13	ししょうゆ漬	おつけもの安芸菜	16.10.4	広島県	4.6	0.95	10未満	10未満	1未満	(-)	soK
14	たくあん漬	干し大根しそ味	04.9.29	宮崎県	4.5	0.97	10	10未満	1	(-)	保存料なし
15	たくあん漬	かつおたくあん	16.9.29	福岡県	4.6	0.97	10未満	10	1	(-)	soK
16	ししょうゆ漬	広島菜本漬	04.9.20	広島県	4.9	0.98以上	10未満	10未満	1未満	(-)	保存料なし
17	ししょうゆ漬	花たかな	04.9.30	福岡県	4.3	0.96	1.2x10 ³	1.2x10 ²	2	(-)	soK
18	たくあん漬	梅かつお味	04.9.10	愛知県	4.1	0.98以上	10未満	10未満	1未満	(-)	soK
19	酢漬	甘楽京	04.9.15	栃木県	3.4	0.97	10未満	10未満	1未満	(-)	醸造酢
20	たくあん漬	つぼ漬たくあん	04.10.5	宮崎県	5.0	0.97	10未満	10未満	1未満	(-)	soK
21	なら漬	奈良漬	04.9.03	徳島県	5.0	0.90	8.8x10 ³	1.2x10 ³	5	(-)	soK
22	ししょうが酢漬	干切り紅生姜	04.10.12	栃木県	3.3	0.97	80	10未満	1未満	(-)	soK
23	ふくじん漬	福神漬	04.9.5	大阪府	4.5	0.93	10未満	30	1未満	(-)	soK
24	ししょうゆ漬	きゅうり	04.8.28	愛知県	4.9	0.97	10	10未満	1未満	(-)	保存料なし
25	ししょうゆ漬	樽出し本漬野沢菜	04.10.14	長野県	4.9	0.98以上	10未満	10未満	1未満	(-)	soK
26	ししょうゆ漬	ごま高菜	04.9.20	福岡県	4.4	0.97	10未満	10未満	1	(-)	soK
27	ししょうゆ漬	高菜	04.10.4	福岡県	4.4	0.96	150	10	4	(-)	soK
28	ふくじん漬	カレー福神漬	04.11.6	群馬県	4.5	0.93	10	40	1	(-)	保存料なし
29	たくあん漬	ホワイトつぼ漬	04.10.12	広島県	4.3	0.98以上	10	10未満	1未満	(-)	soK
30	ふくじん漬	福神漬	04.10.14	鹿児島県	4.3	0.95	10未満	10未満	1	(-)	soK
31	ししょうゆ漬	つぼ漬	04.10.21	鹿児島県	4.2	0.96	80	30	1	(-)	soK
32	ししょうゆ漬	味なす	04.9.19	埼玉県	4.5	0.98以上	10未満	10未満	2	(-)	soK
33	惣菜	高菜の油炒め	04.10.9	長崎県	4.6	0.96	10	10未満	1未満	(-)	soK
34	ししょうゆ漬	純しば	04.8.21	京都府	4.1	0.96	30	10未満	1未満	(-)	3.5%NaCl
35	たくあん漬	本干したくあん日向漬	04.9.20	宮崎県	4.4	0.97	10	10未満	1未満	(-)	soK
36	ししょうゆ漬	つぼ漬十五番	04.9.25	宮崎県	4.4	0.96	10	10未満	1未満	(-)	soK
37	ししょうゆ漬	きざみたかな漬	04.9.13	長崎県	4.3	0.97	10未満	10未満	1未満	(-)	soK
38	ししょうゆ漬	やく膳にんにく梅ごのみ	04.10.23	東京都	4.2	0.95	10未満	10未満	1未満	(-)	soK
39	ししょうゆ漬	たまりにんにく	04.10.7	埼玉県	4.5	0.96	10	20	1未満	(-)	soK
40	ししょうゆ漬	青しその実	04.10.8	愛知県	4.8	0.95	3.5x10 ²	2.6x10 ²	2	(-)	soK

表1 市販漬物の理化学的・微生物学的試験結果(つづき)

No.	名称	品名	賞味期限	製造所所在地	pH	Aw	spc/g	好気芽胞数/g	クロストリジア数/g	ポツリヌス	備考
41	しょうゆ漬	杉樽一本漬	04.08.16	福島県	4.5	0.98以上	10未満	10未満	1未満	(-)	塩度3%以下
42	しょうゆ漬	炬ばた漬	04.9.22	東京都	4.6	0.98以上	20	10	1未満	(-)	
43	しょうゆ漬	ひとくち香潤	04.8.27	東京都	4.6	0.97	10未満	10未満	1未満	(-)	
44	しょうゆ漬	胡瓜まるごと鳳酔	04.10.12	福島県	4.4	0.98以上	10	10未満	1未満	(-)	乳酸発酵漬け込み
45	しょうゆ漬	相馬きゅうり	04.10.22	福島県	4.4	0.98以上	10	10未満	1未満	(-)	
46	たくあん漬	かつおたくあん	04.8.22	神戸市	4.7	0.98以上	20	10	1未満	(-)	
47	たくあん漬	藤漬来三郎本漬大根	04.10.10	長野県	4.1	0.98以上	10未満	10未満	1未満	(-)	
48	しょうゆ漬	はりはり漬	04.09.15	京都市	4.6	0.93	90	60	1	(-)	
49	しょうゆ漬	京乃都漬	04.10.06	京都市	4.4	0.97	10未満	10未満	3	(-)	
50	?	袋詰めからし茄子	04.09.01	新潟県	4.7	0.94	40	20	1	(-)	10度以下で保存
51	しょうゆ漬	しそ巻	04.7.26	福島県	5.2	0.96	80	70	1未満	(-)	soK
52	しょうゆ漬	みちのくの漬物晩菊	04.09.28	山形県	4.2	0.94	2.8x10 ²	1.1x10 ²	2	(-)	soK
53	たくあん漬	いぶりがっこ	04.10.15	秋田県	4.8	0.96	Bacillus	50	6	(-)	
54	かす漬	ニンニクかす漬	04.08.09	兵庫県	4.9	0.94	10未満	10未満	1未満	(-)	
55	しょうゆ漬	醤油にんにく	04.12.05	東京都	4.9	0.96	10	10	1未満	(-)	
56	惣菜	野沢菜茶漬	04.11.21	長野県	4.9	0.91	Bacillus	Bacillus	1	(-)	
57	しょうゆ漬	わさび茶漬	05.6.21	長野県	5.0	0.96	10	10	1	(-)	
58	みそ漬	藤造大根・胡瓜・味噌漬	04.09.12	長野県	4.7	0.89	70	60	1	(-)	
59	酢漬	しそ胡瓜(赤)	04.08.05	京都市	4.0	0.98以上	10	10未満	1未満	(-)	soK
60	酢漬	しそ胡瓜(白)	04.08.15	京都市	4.6	0.98以上	10	10未満	1	(-)	soK

表2 漬物から分離されたクロストリジア培地黒色集落の16S rDNA塩基配列による相同性検索およびマウス毒性試験結果

No.	名称	品名	pH	Aw	クロストリジア数/g	相同性検索結果 ^{a)}	マウス毒性 ^{b)}
2	しょうゆ漬	山くらげ	4.8	0.96	1	<i>Clostridium</i> sp.	(-)
4	しょうゆ漬	ごま高菜	5.0	0.98以上	1	<i>Clostridium</i> sp.	(-)
7	福神漬	福神漬	4.5	0.97	1	<i>Clostridium</i> sp.	(-)
9	しょうゆ漬	青かつば漬	4.8	0.98	1	<i>Clostridium</i> sp.	(-)
10	しょうゆ漬	樽出し本漬野沢菜	4.9	0.97	1	N.D.	(-)
12	なら漬	なら漬	5.0	0.91	18	<i>C. sporogenes</i>	(-)
14	たくあん漬	干し大根しそ味	4.5	0.97	1	<i>C. argentiniense</i>	(-)
15	たくあん漬	かつおたくあん	4.6	0.97	1	<i>Clostridium</i> sp.	(-)
17	しょうゆ漬	花たかな	4.3	0.96	2	<i>Clostridium</i> sp.	(-)
21	なら漬	奈良漬	5.0	0.90	5	<i>Clostridium</i> sp.	(-)
26	しょうゆ漬	ごま高菜	4.4	0.97	1	<i>Clostridium</i> sp.	(-)
27	しょうゆ漬	高菜	4.4	0.96	4	<i>Clostridium</i> sp.	(-)
28	ふくじん漬	カレー福神漬	4.5	0.93	1	<i>Clostridium</i> sp.	(-)
30	ふくじん漬	福神漬	4.3	0.95	1	N.D.	(-)
31	しょうゆ漬	つぼ漬	4.2	0.96	1	<i>C. glycolinum</i>	(-)
32	しょうゆ漬	味なす	4.5	0.98以上	2	<i>C. perfringens</i> ♂	(-)
40	しょうゆ漬	青しその実	4.8	0.95	2	N.D.	(-)
48	しょうゆ漬	はりはり漬	4.6	0.93	1	N.D.	(-)
49	しょうゆ漬	京乃都漬	4.4	0.97	3	<i>C. subterminale</i>	(-)
50	?	袋詰めからし茄子	4.7	0.94	1	<i>Clostridium</i> sp.	(-)
52	しょうゆ漬	みちのくの漬物晩菊	4.2	0.94	2	<i>Clostridium</i> sp.	(-)
53	たくあん漬	いぶりがっこ	4.8	0.96	6	<i>Clostridium</i> sp.	(-)
56	葱菜	野沢菜茶漬	4.9	0.91	1	<i>Clostridium</i> sp.	(-)
57	しょうゆ漬	わさび茶漬	5.0	0.96	1	N.D.	(-)
58	みそ漬	大根・胡瓜・味噌漬	4.7	0.89	1	<i>Clostridium</i> sp.	(-)
60	酢漬	しそ胡瓜(白)	4.6	0.98以上	1	N.D.	(-)

a) 菌種名記載は、相同性98%以上の菌株; *Clostridium* sp. は検索結果の上位リストから属を判断した。

b) ddY系雄マウス腹腔内に、クックドミート培地7日間培養上清0.5mlを接種し、4日間観察した。

N.D.: 試験せず

表3 ゼリーの理化学的試験結果

No.	試験品	製造所あるいは固有記号	pH	Aw
1	ニコニコゼリー	福岡県	4.0	0.98以上
2	ぶどう味	群馬県	3.8	0.98以上
3	白桃味	群馬県	4.1	0.98以上
4	白桃ゼリー	山形県	3.7	0.98以上
5	ぶどうゼリー	山形県	3.8	0.98以上
6	さくらんぼゼリー	山形県	4.0	0.98以上
7	ブルーベリーゼリー	山形県	3.7	0.98以上
8	ストロベリーとナタデココ&ヨーグルト	山形県	4.1	0.98以上
9	アロエとナタデココ&ヨーグルト	山形県	4.2	0.98以上
10	くだものいっぱいゼリーミックス	新潟県	3.9	0.98以上
11	くだものいっぱいゼリー杏仁フルーツ	新潟県	4.0	0.98以上
12	くだものいっぱいゼリーぶどう	新潟県	4.0	0.98以上
13	いちごの粒入りゼリーとバニラムース	山形県	3.9	0.98以上
14	ブルーベリーの粒入りゼリーとチーズムース	山形県	3.9	0.98以上
15	青梅	岐阜県	3.9	0.98以上
16	あんず	岐阜県	3.8	0.98以上
17	果物合わせ	岐阜県	3.8	0.98以上
18	アロエベラとレアチーズ	山形県	4.0	0.97
19	カイケツゾロ	東京都	3.9	0.97
20	水辺の果実	東京都	3.7	0.98以上
21	ぶどうゼリー	長崎県	3.6	0.97
22	ももゼリー	長崎県	3.9	0.97
23	びわゼリー	長崎県	3.9	0.97
24	蒟蒻入りみかん・白桃・ぶどう・パインミックスゼリー	群馬県	3.8	0.97
25	杏仁豆腐	長野県	3.7	0.98以上

日本缶詰協会研究所にて実施

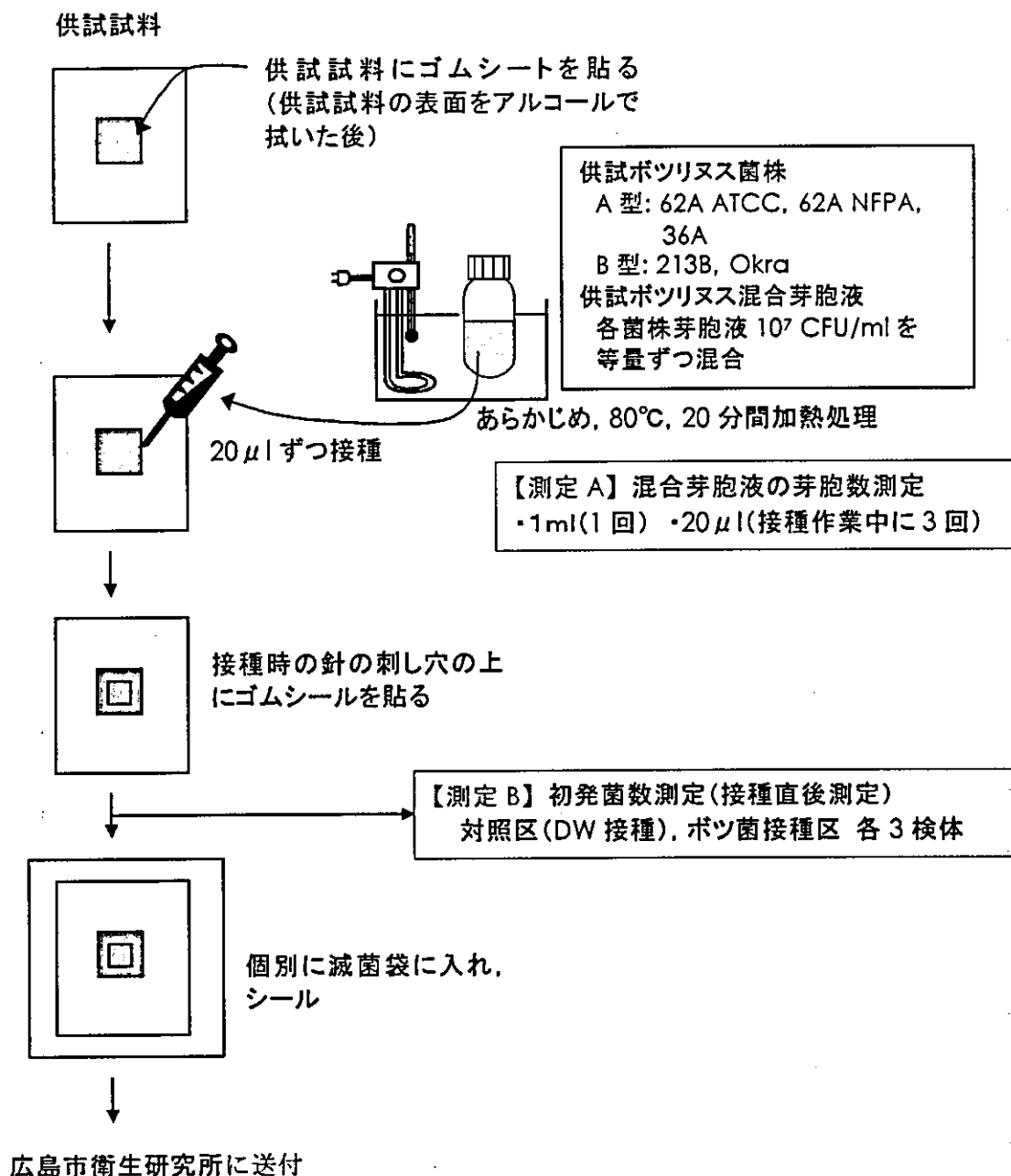


図3 ボツリヌス菌芽胞接種方法の概要



図4 芽胞接種試験供試品 漬物A: ザーサイ

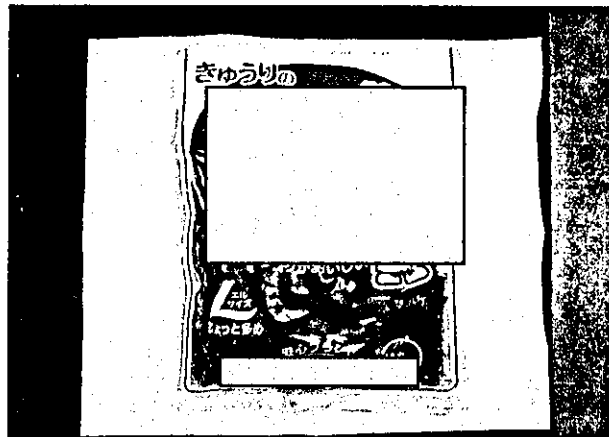


図5 芽胞接種試験供試品 漬物B: きゅうり

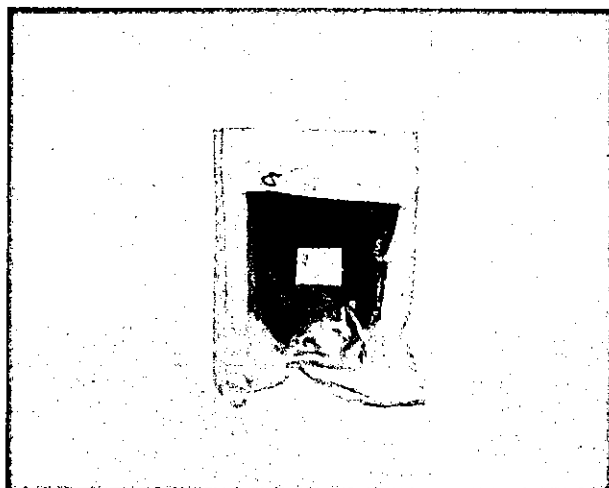


図6 芽胞接種試験供試品 生菓子:コーヒーゼリー

表 4 漬物 A (ザーサイ) のボツリヌス菌芽胞接種試験成績

番号	検体の処理	検査時期	恒温開始日	容器の膨化	恒温日数	検査項目				
						SPC (cfu/g)	CLC (cfu/g)	毒素試験	pH	Aw
M-1	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.4×10 ⁴	—	•	•
M-2	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	2.0×10 ⁴	—	•	•
M-3	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	2.0×10 ⁴	—	•	•
M-4	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	2.3×10 ⁴	—	•	•
M-5	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.3×10 ⁴	—	•	•
M-6	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	2.1×10 ⁴	—	•	•
M-7	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.7×10 ⁴	—	•	•
M-8	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	2.2×10 ⁴	—	•	•
M-9	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.9×10 ⁴	—	•	•
M-10	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.9×10 ⁴	—	•	•
M-11	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.8×10 ⁴	—	•	•
M-12	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.9×10 ⁴	—	•	•
M-13	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	2.0×10 ⁴	—	•	•
M-14	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.8×10 ⁴	—	•	•
M-15	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.3×10 ⁴	—	•	•
M-16	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.6×10 ⁴	—	•	•
M-17	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	2.0×10 ⁴	—	•	•
M-18	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	2.1×10 ⁴	—	•	•
M-19	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.2×10 ⁴	—	•	•
M-20	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.9×10 ⁴	—	•	•
M-21	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.8×10 ⁴	—	•	•
M-22	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.9×10 ⁴	—	•	•
M-23	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.9×10 ⁴	—	•	•
M-24	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	2.0×10 ⁴	—	•	•
M-25	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	2.1×10 ⁴	—	•	•
M-26	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.7×10 ⁴	—	•	•
M-27	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.8×10 ⁴	—	•	•
M-28	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.8×10 ⁴	—	•	•
M-29	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	2.0×10 ⁴	—	•	•
M-30	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.8×10 ⁴	—	•	•
M-31	芽胞接種群	接種直後	•	—	•	15	2.5×10 ⁴	•	4.7	•
M-32	芽胞接種群	接種直後	•	—	•	10	2.6×10 ⁴	•	4.7	•
M-33	芽胞接種群	接種直後	•	—	•	25	2.6×10 ⁴	•	4.7	•
M-34	開封操作	接種直後	•	—	•	15	10未満	•	4.7	•
M-35	DW接種	接種直後	•	—	•	20	10未満	•	4.7	•
M-36	(陰性対照)	接種直後	•	—	•	20	10未満	•	4.7	•
M-37	開封操作		•	—	90日間	10未満	10未満	—	•	•
M-38	DW接種	90日後	•	—	90日間	10未満	10未満	—	•	•
M-39	(陰性対照)		•	—	90日間	10未満	10未満	—	•	•
M-40			•	—	•	10未満	10未満	—	•	•
M-41	未処理	開始直後	•	—	•	10未満	10未満	—	•	•
M-42			•	—	•	10未満	10未満	—	•	•
M-43			•	—	90日間	10未満	10未満	—	•	•
M-44	未処理	90日後	•	—	90日間	10未満	10未満	—	•	•
M-45			•	—	90日間	10未満	10未満	—	•	•
M-46			•	—	•	•	•	•	4.8	0.97
M-47	未処理	開始直後	•	—	•	•	•	•	4.7	0.97
M-48			•	—	•	•	•	•	4.7	0.97

*SPC:一般生菌数、CLC:嫌気性菌数

表 5 漬物B (きゅうり) のボツリヌス菌芽胞接種試験成績

番号	検体の処理	検査時期	恒温開始日	容器の膨化	恒温日数	検査項目				
						SPC (cfu/g)	CLC (cfu/g)	毒素試験	pH	Aw
M-1	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.3×10 ⁴	—	•	•
M-2	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.3×10 ⁴	—	•	•
M-3	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	8.2×10 ³	—	•	•
M-4	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.4×10 ⁴	—	•	•
M-5	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.4×10 ⁴	—	•	•
M-6	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.5×10 ⁴	—	•	•
M-7	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.3×10 ⁴	—	•	•
M-8	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.4×10 ⁴	—	•	•
M-9	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.7×10 ⁴	—	•	•
M-10	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.4×10 ⁴	—	•	•
M-11	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.7×10 ⁴	—	•	•
M-12	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	9.8×10 ³	—	•	•
M-13	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.8×10 ⁴	—	•	•
M-14	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.6×10 ⁴	—	•	•
M-15	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.7×10 ⁴	—	•	•
M-16	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.8×10 ⁴	—	•	•
M-17	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.4×10 ⁴	—	•	•
M-18	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.3×10 ⁴	—	•	•
M-19	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.5×10 ⁴	—	•	•
M-20	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.7×10 ⁴	—	•	•
M-21	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.8×10 ⁴	—	•	•
M-22	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	8.9×10 ³	—	•	•
M-23	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.8×10 ⁴	—	•	•
M-24	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.7×10 ⁴	—	•	•
M-25	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.6×10 ⁴	—	•	•
M-26	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.7×10 ⁴	—	•	•
M-27	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.8×10 ⁴	—	•	•
M-28	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.4×10 ⁴	—	•	•
M-29	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.5×10 ⁴	—	•	•
M-30	芽胞接種群	膨化時	11月25日	—	90日間	10未満	1.8×10 ⁴	—	•	•
M-31	芽胞接種群	接種直後	•	—	•	10未満	8.6×10 ³	•	4.9	•
M-32	芽胞接種群	接種直後	•	—	•	10未満	9.1×10 ³	•	4.9	•
M-33	芽胞接種群	接種直後	•	—	•	10未満	1.6×10 ⁴	•	4.9	•
M-34	開封操作	接種直後	•	—	•	10	10未満	•	4.9	•
M-35	DW接種	接種直後	•	—	•	10	10未満	•	4.9	•
M-36	(陰性対照)	接種直後	•	—	•	10未満	10未満	•	4.9	•
M-37	開封操作		•	—	90日間	10未満	10未満	—	•	•
M-38	DW接種	90日後	•	—	90日間	10未満	10未満	—	•	•
M-39	(陰性対照)		•	—	90日間	10未満	10未満	—	•	•
M-40			•	—	•	10未満	10未満	—	•	•
M-41	未処理	開始直後	•	—	•	10未満	10未満	—	•	•
M-42			•	—	•	10未満	10未満	—	•	•
M-43			•	—	90日間	10未満	10未満	—	•	•
M-44	未処理	90日後	•	—	90日間	10未満	10未満	—	•	•
M-45			•	—	90日間	10未満	10未満	—	•	•
M-46			•	—	•	•	•	•	4.9	0.97
M-47	未処理	開始直後	•	—	•	•	•	•	4.9	0.97
M-48			•	—	•	•	•	•	4.9	0.97

* SPC:一般生菌数、CLC:嫌気性菌数

表6 コーヒーゼリーのボツリヌス菌芽胞接種試験成績

番号	検体の処理	検査時期	恒温開始日	容器の膨化	恒温日数	検査項目				
						SPC(cfu/g)	CLC(cfu/g)	毒素試験	pH	Aw
M-1	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	30日間	10未満	1.7×10 ²	—	•	•
M-2	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	30日間	10未満	8.1×10 ³	—	•	•
M-3	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	30日間	10未満	8.6×10 ³	—	•	•
M-4	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	30日間	10未満	7.2×10 ³	—	•	•
M-5	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	30日間	10未満	9.1×10 ³	—	•	•
M-6	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	75日間	10未満	1.2×10 ²	—	5.0	•
M-7	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	75日間	10未満	2.5×10 ²	—	5.0	•
M-8	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	75日間	10未満	3.1×10 ²	—	5.0	•
M-9	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	75日間	10未満	1.5×10 ²	—	5.0	•
M-10	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	75日間	10未満	8.0×10 ¹	—	5.0	•
M-11	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	75日間	10未満	1.0×10 ²	—	5.0	•
M-12	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	75日間	10未満	9.0×10 ¹	—	5.0	•
M-13	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	75日間	10未満	1.2×10 ²	—	5.0	•
M-14	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	75日間	10未満	2.3×10 ²	—	5.0	•
M-15	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	75日間	10未満	7.0×10 ²	—	5.0	•
M-16	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	75日間	10未満	9.0×10 ¹	—	5.0	•
M-17	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	75日間	10未満	1.4×10 ²	—	5.0	•
M-18	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	75日間	10未満	1.5×10 ²	—	5.0	•
M-19	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	75日間	10未満	1.3×10 ²	—	5.0	•
M-20	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	75日間	10未満	10未満	—	5.4	•
M-21	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	75日間	10未満	9.0×10 ¹	—	5.0	•
M-22	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	75日間	10未満	1.1×10 ²	—	5.0	•
M-23	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	75日間	10未満	10未満	—	5.4	•
M-24	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	75日間	10未満	2.1×10 ²	—	5.0	•
M-25	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	75日間	10未満	10未満	—	5.4	•
M-26	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	75日間	10未満	1.7×10 ²	—	5.0	•
M-27	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	75日間	10未満	1.3×10 ²	—	5.0	•
M-28	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	75日間	10未満	1.3×10 ²	—	5.0	•
M-29	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	75日間	10未満	1.2×10 ²	—	5.0	•
M-30	芽胞接種群	膨化時	1月28日	—	75日間	10未満	1.9×10 ²	—	5.0	•
M-31	芽胞接種群	接種直後	•	—	•	10未満	3.0×10 ⁴	•	5.4	•
M-32	芽胞接種群	接種直後	•	—	•	10未満	5.6×10 ³	•	4.8	•
M-33	芽胞接種群	接種直後	•	—	•	10未満	5.0×10 ³	•	4.8	•
M-34	開封操作	接種直後	•	—	•	10	10未満	•	5.6	•
M-35	DW接種	接種直後	•	—	•	10	10未満	•	4.8	•
M-36	(陰性対照)	接種直後	•	—	•	10未満	10未満	•	4.8	•
M-37	開封操作		•	—	75日間	10未満	10未満	—	•	•
M-38	DW接種	75日後	•	—	75日間	10未満	10未満	—	•	•
M-39	(陰性対照)		•	—	75日間	10未満	10未満	—	•	•
M-40			•	—	•	10未満	10未満	—	•	•
M-41	未処理	開始直後	•	—	•	10未満	10未満	—	•	•
M-42			•	—	•	10未満	10未満	—	•	•
M-43			•	—	75日間	10未満	10未満	—	•	•
M-44	未処理	75日後	•	—	75日間	10未満	10未満	—	•	•
M-45			•	—	75日間	10未満	10未満	—	•	•
M-46			•	—	•	•	•	•	4.7	0.98以上
M-47	未処理	開始直後	•	—	•	•	•	•	5.5	0.98以上
M-48			•	—	•	•	•	•	5.5	0.98以上

* SPC:一般生菌数、CLC:嫌気性菌数

表7 漬物への栄養型ボツリヌス菌接種培養試験成績

検体	初発接種菌数/g	培養後菌数/g	ボツリヌス毒素
漬物A	5	10	(-)
漬物B	3	10未満	(-)

培養後菌数：30℃、20日間嫌気培養後のクロストリジア菌数

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

ボツリヌス菌の性状の検討

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

研究協力者：幸田 知子 大阪府立大学大学院農学生命科学研究科助手

研究要旨

容器包装詰低酸性食品のボツリヌス食中毒のリスク評価を行うために、対象食品に直接ボツリヌス菌芽胞を接種し、菌の増殖至適温度下で当該食品内における毒素産生の有無を調べることにより、食品の安全性を評価する方法が考えられている。この接種実験のために候補としてあげたボツリヌス A 型菌の増殖、毒素産生性を酸性域で調べることにより、各菌株の性状を検討した。また、ボツリヌス菌の代用菌として考えられている *C. sporogenes* PA3679 株の増殖能も併せて検討した。

A. 研究目的

わが国では東北、北海道地方を中心にして魚介類の発酵食品である「いずし」による E 型中毒が多数発生していることはよく知られている。しかし、近年これまでほとんど分離されていない A 型、B 型菌による食中毒事件が発生し、わが国の食中毒予防対策上大きな問題となっている。これら食中毒の原因として疑われた食品はすべて密閉された容器包装詰形態をしており、いわゆる要冷蔵の「レトルト類似食品」として市販されていたが、実際は室温保存されていた。現在、食品製造技術や容器包装材の進歩と多様化する消費者ニーズに呼応した形で、ボツリヌス菌による中毒に対して十分な配慮を欠いた真空包装食品あるいは不活化ガス充填食品が常温で流通している。このような状況において、容器包装詰食品のボツリヌス菌のリスク評価は食品衛生上極めて重要な課題と言える。食品のボツリヌス中毒に対する危害を評価するためには、直接食品に芽胞を接種し、毒素産生の有無を調べるのが最も確実であると考えられている。一方、ボツリヌス菌は芽胞産生性、毒素産生性などの諸性状が株間で異なるために菌株の選定が重要である。本年度はこの食品への接種実験に適したボツリヌス菌株を選定することを目的として、数株の A 型菌の芽胞産生性、増殖および毒素産生性を調べた。また、ボツリヌス菌の

代用菌として考えられている *C. sporogenes* PA3679 株の増殖能も併せて検討した。

B. 研究方法

1. 使用菌株

昨年度、接種用菌株として候補に挙げ、毒素産生性を調べた *Clostridium botulinum* A 型菌 3 株（62A、97A、Renkon）の内、97A 株は、芽胞産生能が極めて悪く、また産生された芽胞の耐熱性も低かったため、他の教室保存株および東京都健康安全センターから分与を受けた菌株（CB21）から選別し、上記の 2 株（62A、Renkon）の他に 36A、33A、CB21 の 3 株、計 5 株を以下の実験に供した。ボツリヌス菌の代用菌として *C. sporogenes* PA3679 を用いた。

2. 芽胞の調製

各菌株をクックドミート培地で一晚培養後、卵黄加 GAM 寒天培地に塗布し形成された 10 株以上のコロニーから毒素産生能が最も高い株を選別した。分離菌を再度クックドミート培地で一晚培養し、芽胞調製用培地（5% Trypticase、0.5% Bacto peptone、0.1% Na-thioglycolate、pH 7.0）に接種し、30℃7 日間培養した。培養液を遠心して芽胞を集め滅菌蒸留水に懸濁し、バスタイプソニケーター中で 30 秒 2 回処理した。さらに懸濁した芽胞を遠心操作により 10 回滅菌蒸留水で洗浄後、芽胞の形状を顕微鏡で

観察後、-30℃で保存した。芽胞数の測定は卵黄加 GAM 寒天培地を用いたパウチ法で行った。

3. 増殖および毒素産生能

PYG 培地 (2% Proteose peptone、0.5%酵母エキス、0.5%ブドウ糖、0.025% Na-thioglycolate) を pH 7 および pH 6 以下 0.2 間隔で pH 4.4 までの異なる pH で調整し、各菌株の増殖、毒素産生性を調べた。各菌株の芽胞懸濁液を滅菌蒸留水に適当に希釈し、その 0.1 ml を最終芽胞数が 10^3 あるいは 10^5 /ml になるように PYG 培地 10 ml に接種し 30℃で培養した。1 週間隔で培養液の pH の変化、菌の増殖および毒素産生量を調べた。菌の増殖 600 nm で培養液の濁度を測定することにより判定した。毒素産生量はマウス尾静脈法によりマウスの致死時間から腹腔内 (ip)LD₅₀/ml を算出した。代用菌としての *C. sporogenes* PA3679 株については酸性域での増殖性を調べるために、 10^5 /ml になるように PYG 培地に芽胞を接種し、30℃における増殖の程度を 1 日間隔で 4 日間調べた。

C. 研究結果

1. 供試菌の毒素産生および芽胞形成能

選別した A 型菌 5 株 (62A、Renkon、33A、36A、CB21) の毒素産生量は比較的高く、PYG 培地 3 日間の培養で $6\sim 13 \times 10^5$ LD₅₀/ml の毒素を産生した。また芽胞形成能については、400 ml の培養液からいずれの菌株においても 10^8 個以上の芽胞を得ることができた (表 1)。

2. 各菌株の増殖および毒素産生性

各菌株の芽胞懸濁液を培地 10 ml を分注した試験管 5 本に接種し、1 週間隔で毒素産生量と菌増殖を調べた。CB-21 株は他の 4 株と較べて酸性域における増殖能が若干劣っており、特に 10^3 /ml の芽胞接種では pH 5.2 での増殖が見られなかった。一方、Renkon、36A 株は pH 4.8 でも増殖、毒素産生が認められた。また、より酸性域で確認された毒素は高い pH 域よりも長期間毒素が検出される傾向があった (表 2)。

C. sporogenes PA3679 株の酸性域での増殖能を調べるために、芽胞を 10^5 /ml になるように PYG 培地に接種し 30℃で 4 日間培養した。pH 6.0 では増殖したが、pH 5.2 以下では増殖しなかった (表 3)。

D. 考察

ボツリヌス中毒のリスク評価を行うために様々な試みが行われているが、対象食品の成分は多様であり、安全性を評価するためには食品に直接芽胞を接種し、菌の増殖、毒素産生の有無を調べることが最も確実である。接種実験用に適したボツリヌス菌 A 型菌を選定する過程で、当初候補として挙げていた 97A 株は芽胞形成能が低く、芽胞の耐熱性も低いことが分かった。また、ボツリヌス菌 A 型毒素を最初に精製、結晶化するために使用された Hall 株は芽胞をほとんど形成しない変異株であることも知られている。そのため、接種実験には同型の複数の菌株を混合した芽胞液を使用することが推奨されている。そのため、本年度はあらためて対象食品への接種実験に用いる候補として、わが国で保存あるいは分離された菌株から毒素産生能および芽胞形成能に優れた A 型菌 5 株を選別した。選別した 5 株間での毒素産生および芽胞形成については、菌株間で若干の差はあるものの、全ての株で毒素産生量は 10^5 LD₅₀/ml 以上であり、芽胞形成能も比較的少量の培地で実験に供する芽胞数を調製できると判断された。各菌株の酸性域での毒素産生を調べたところ、菌株間で差が認められた。特に、接種芽胞数が 10^3 /ml では、pH 5.0 あるいは 5.2 で CB21 株は影響を受けることが分かった。一方、Renkon および 36A 株は pH 4.8 でも増殖、毒素産生することから、従来から指摘されているように複数の菌株を混合して接種実験に用いる意義を再確認した。いずれの菌においても pH 4.6 以下では増殖が認められなかった。

ボツリヌス菌接種実験に耐熱性の優れた *C. sporogenes* PA3679 を代用菌として使用可能かどうかを判断するために、異なる pH における増殖を調べたが、この菌は pH 5.2 以下での増殖が確認できず、ボツリヌス菌 A 型菌と較べて酸性域での増殖能が劣ることが分かった。このことは、食品の性状によっては代用菌として使用することは不適であるといえる。現在、B 型菌についても同様の実験を進めており、最終報告書には A、B 型菌の成績を報告する予定である。

E. 結論

密封包装詰食品に対する接種実験に用いるために

候補としてボツリヌス A 型菌 5 株を選定した。ボツリヌス菌の代用としての考えられる C. sporogenes PA3679 はボツリヌス菌 A 型菌より酸性域での増殖性が劣っていた。

F. 健康危険情報
なし

表 1

The toxin and spore production of type A strains

strain	Toxicity(x10 ⁵ LD50/ml)	Spore (x10 ⁸) ¹⁾
62A	13.00	17
Renkon	11.50	1.8
36A	10.10	2.6
33A	6.08	14.6
CB21	6.05	1.2

1) The number of spore obtained from 400 ml of culture

表2 Growth and toxin production of *C. botulinum* type A strains in different pH

62A

Inoculation of spore (/ml)		Toxicity (x 10 ⁵ LD ₅₀ /ml)																	
		wk	pH7.0	pH6.0	pH5.8	pH5.6	pH5.4	pH5.2	pH5.0	pH4.8	pH4.6	pH4.4							
10 ³	1	5/5	13.6	5/5	15.0	5/5	16.1	5/5	18.7	5/5	20.2	5/5	20.2	5/5	16.1	0/5	S	0/5	S
	2	4/4	10.6	4/4	9.4	4/4	13.9	4/4	10.0	4/4	13.9	4/4	12.1	4/4	10.0	0/4	S	0/4	S
	3	3/3	1.9	3/3	10.0	3/3	9.4	3/3	7.8	3/3	5.6	3/3	7.4	3/3	15.0	0/3	S	0/3	S
	4	2/2	0.3	2/2	1.1	2/2	2.6	2/2	3.9	2/2	2.3	2/2	4.4	2/2	5.0	0/2	S	0/2	S
10 ⁵	1	5/5	10.6	5/5	18.7	5/5	16.1	5/5	10.6	5/5	25.8	5/5	23.7	5/5	18.7	5/5	6.9	0/5	S
	2	4/4	9.4	4/4	8.3	4/4	13.0	4/4	8.7	4/4	13.9	4/4	15.0	4/4	11.4	4/4	S	0/4	S
	3	3/3	3.5	3/3	8.3	3/3	7.4	3/3	10.0	3/3	11.4	3/3	11.4	3/3	9.4	3/3	S	0/3	S
	4	2/2	0.7	2/2	0.5	2/2	3.9	2/2	4.1	2/2	3.1	2/2	8.1	2/2	8.7	2/2	S	0/2	S

S; survive, +; low toxicity, NT; not tested

Inoculation of spore (/ml)		Growth at 600 nm																	
		wk	pH7.0	pH6.0	pH5.8	pH5.6	pH5.4	pH5.2	pH5.0	pH4.8	pH4.6	pH4.4							
10 ³	1	5/5	0.52	5/5	0.49	5/5	0.45	5/5	0.45	5/5	0.44	5/5	0.63	5/5	1.30	0/5	0.00	0/5	0.00
	2	4/4	0.70	4/4	0.49	4/4	0.40	4/4	0.36	4/4	0.35	4/4	0.45	4/4	0.48	0/4	0.00	0/4	0.00
	3	3/3	0.81	3/3	0.60	3/3	0.58	3/3	0.64	3/3	0.43	3/3	0.44	3/3	0.33	0/3	0.00	0/3	0.00
	4	2/2	0.93	2/2	0.78	2/2	0.70	2/2	0.70	2/2	0.63	2/2	0.59	2/2	0.61	0/2	0.00	0/2	0.01
10 ⁵	1	5/5	0.74	5/5	0.38	5/5	0.35	5/5	0.36	5/5	0.34	5/5	0.43	5/5	0.99	5/5	0.06	0/5	0.00
	2	4/4	0.65	4/4	0.39	4/4	0.38	4/4	0.37	4/4	0.35	4/4	0.35	4/4	0.36	4/4	0.00	0/4	0.00
	3	3/3	0.70	3/3	0.53	3/3	0.57	3/3	0.48	3/3	0.36	3/3	0.37	3/3	0.42	3/3	0.01	0/3	0.00
	4	2/2	0.89	2/2	0.77	2/2	0.68	2/2	0.54	2/2	0.55	2/2	0.52	2/2	0.48	2/2	0.01	0/2	0.01

Renkon

Inoculation of spore (/ml)		Toxicity (x 10 ⁵ LD ₅₀ /ml)																	
		wk	pH7.0	pH6.0	pH5.8	pH5.6	pH5.4	pH5.2	pH5.0	pH4.8	pH4.6	pH4.4							
10 ³	1	5/5	6.9	5/5	6.9	5/5	11.4	5/5	10.6	5/5	11.4	5/5	11.5	5/5	6.6	5/5	0.5	0/5	S
	2	4/4	10.6	4/4	9.4	4/4	11.4	4/4	13.0	4/4	16.1	4/4	15.0	4/4	13.9	0/4	S	0/4	S
	3	3/3	6.9	3/3	6.6	3/3	9.4	3/3	8.3	3/3	10.6	3/3	12.1	3/3	11.4	0/3	S	0/3	S
	4	2/2	4.4	2/2	11.0	2/2	5.7	2/2	4.7	2/2	2.3	2/2	2.4	2/2	9.4	0/2	S	0/2	S
10 ⁵	1	5/5	11.4	5/5	17.3	5/5	18.7	5/5	5.0	5/5	13.9	5/5	8.8	5/5	13.0	5/5	2.9	0/5	S
	2	4/4	10.6	4/4	12.1	4/4	16.1	4/4	11.4	4/4	18.7	4/4	13.0	4/4	17.3	4/4	16.1	0/4	S
	3	3/3	5.3	3/3	5.3	3/3	9.4	3/3	10.6	3/3	7.8	3/3	15.0	3/3	13.0	3/3	12.1	0/3	S
	4	2/2	3.3	2/2	6.5	2/2	10.1	2/2	5.3	2/2	7.5	2/2	3.9	2/2	7.0	2/2	S	0/2	S

S; survive, +; low toxicity, NT; not tested

Inoculation of spore (/ml)		Growth at 600 nm																	
		wk	pH7.0	pH6.0	pH5.8	pH5.6	pH5.4	pH5.2	pH5.0	pH4.8	pH4.6	pH4.4							
10 ³	1	5/5	0.53	5/5	0.50	5/5	0.60	5/5	0.46	5/5	0.62	5/5	0.95	5/5	0.98	5/5	0.95	0/5	0.00
	2	4/4	0.29	4/4	0.29	4/4	0.40	4/4	0.29	4/4	0.30	4/4	0.37	4/4	0.42	0/4	0.00	0/4	0.00
	3	3/3	0.28	3/3	0.24	3/3	0.19	3/3	0.23	3/3	0.30	3/3	0.37	3/3	0.20	0/3	0.00	0/3	0.00
	4	2/2	0.37	2/2	0.22	2/2	0.27	2/2	0.28	2/2	0.27	2/2	0.37	2/2	0.25	0/2	0.00	0/2	0.00
10 ⁵	1	5/5	0.53	5/5	0.61	5/5	0.59	5/5	0.52	5/5	0.68	5/5	0.76	5/5	1.04	5/5	1.57	0/5	0.00
	2	4/4	0.35	4/4	0.28	4/4	0.39	4/4	0.40	4/4	0.45	4/4	0.43	4/4	0.37	4/4	0.66	0/4	0.02
	3	3/3	0.35	3/3	0.22	3/3	0.19	3/3	0.24	3/3	0.29	3/3	0.40	3/3	0.34	3/3	0.27	0/3	0.01
	4	2/2	0.41	2/2	0.28	2/2	0.27	2/2	0.29	2/2	0.30	2/2	0.39	2/2	0.22	2/2	0.02	0/2	0.01

33A

Inoculation of spore (/ml)		Toxicity (x 10 ⁵ LD ₅₀ /ml)																			
		wk	pH7.0	pH6.0	pH5.8	pH5.6	pH5.4	pH5.2	pH5.0	pH4.8	pH4.6	pH4.4									
10 ³	1	3/5	4.4	3/5	1.3	3/5	4.1	3/5	3.7	5/5	2.0	5/5	4.1	3/5	2.8	0/5	NT	0/5	NT	0/5	NT
	2	2/4	2.1	2/4	3.9	2/4	7.0	2/4	4.7	4/4	5.7	4/4	6.5	2/4	5.3	0/4	NT	0/4	NT	0/4	NT
	3	1/3	1.9	1/3	0.6	1/3	0.3	1/3	0.6	3/3	4.4	3/3	3.5	1/3	3.3	0/3	NT	0/3	NT	0/3	NT
	4	0/2	NT	0/2	NT	0/2	NT	0/2	NT	2/2	1.0	2/2	1.9	0/2	NT	0/2	NT	0/2	NT	0/2	NT
10 ⁵	1	3/5	6.1	3/5	3.7	3/5	3.3	3/5	3.9	5/5	4.1	5/5	3.1	5/5	1.5	0/5	NT	0/5	NT	0/5	NT
	2	2/4	2.9	2/4	9.3	2/4	4.1	2/4	10.1	4/4	10.9	4/4	5.7	4/4	5.3	0/4	NT	0/4	NT	0/4	NT
	3	1/3	1.4	1/3	1.5	1/3	0.6	1/3	2.8	3/3	7.5	3/3	7.5	3/3	4.1	0/3	NT	0/3	NT	0/3	NT
	4	0/2	NT	0/2	NT	0/2	NT	0/2	NT	2/2	0.6	2/2	0.2	2/2	2.6	0/2	NT	0/2	NT	0/2	NT

S; survive, +; low toxicity, NT; not tested

Inoculation of spore (/ml)		Growth at 600 nm																			
		wk	pH7.0	pH6.0	pH5.8	pH5.6	pH5.4	pH5.2	pH5.0	pH4.8	pH4.6	pH4.4									
10 ³	1	3/5	0.60	3/5	1.03	3/5	1.08	3/5	0.84	5/5	1.21	5/5	0.81	3/5	1.39	0/5	NT	0/5	NT	0/5	NT
	2	2/4	0.59	2/4	0.58	2/4	0.75	2/4	0.71	4/4	1.01	4/4	0.39	2/4	0.88	0/4	NT	0/4	NT	0/4	NT
	3	1/3	0.64	1/3	0.62	1/3	0.95	1/3	0.97	3/3	0.60	3/3	0.84	1/3	0.94	0/3	NT	0/3	NT	0/3	NT
	4	0/2	0.72	0/2	0.72	0/2	0.87	0/2	0.95	2/2	0.58	2/2	0.58	0/2	NT	0/2	NT	0/2	NT	0/2	NT
10 ⁵	1	3/5	0.63	3/5	0.88	3/5	0.89	3/5	0.89	5/5	1.08	5/5	1.05	5/5	1.22	0/5	NT	0/5	NT	0/5	NT
	2	2/4	0.59	2/4	0.57	2/4	0.62	2/4	0.42	4/4	0.55	4/4	0.50	4/4	0.92	0/4	NT	0/4	NT	0/4	NT
	3	1/3	0.67	1/3	0.90	1/3	1.01	1/3	0.97	3/3	0.35	3/3	0.32	3/3	0.67	0/3	NT	0/3	NT	0/3	NT
	4	0/2	0.56	0/2	0.70	0/2	0.91	0/2	0.88	2/2	0.95	2/2	0.50	2/2	0.87	0/2	NT	0/2	NT	0/2	NT

36A

Inoculation of		Toxicity ($\times 10^5$ LD ₅₀ /ml)																	
spore(/ml)	wk	pH7.0	pH6.0	pH5.8	pH5.6	pH5.4	pH5.2	pH5.0	pH4.8	pH4.6	pH4.4								
10 ³	1	5/5	2.6	5/5	8.7	5/5	6.5	5/5	4.4	5/5	5.3	5/5	9.4	5/5	10.1	5/5	+	0/5	S
	2	4/4	3.5	4/4	4.1	4/4	5.0	4/4	4.4	4/4	6.1	4/4	5.3	4/4	5.3	4/4	1.4	0/4	S
	3	3/3	+	3/3	+	3/3	+	3/3	+	3/3	+	3/3	+	3/3	2.5	3/3	3.3	0/3	S
	4	2/2	+	2/2	+	2/2	+	2/2	+	2/2	+	2/2	+	2/2	0.1	2/2	0.2	0/2	S
10 ⁵	1	5/5	4.1	5/5	3.5	5/5	4.4	5/5	3.5	5/5	7.0	5/5	3.5	5/5	5.3	5/5	2.5	0/5	S
	2	4/4	2.5	4/4	2.4	4/4	3.5	4/4	2.6	4/4	3.9	4/4	1.7	4/4	5.7	4/4	5.7	0/4	S
	3	3/3	+	3/3	+	3/3	+	3/3	+	3/3	+	3/3	+	3/3	0.2	3/3	7.5	0/3	S
	4	2/2	+	2/2	+	2/2	+	2/2	+	2/2	+	2/2	+	2/2	+	2/2	0.1	0/2	S

S; survive, +; low toxicity, NT; not tested

Inoculation of		Growth at 600 nm																	
spore(/ml)	wk	pH7.0	pH6.0	pH5.8	pH5.6	pH5.4	pH5.2	pH5.0	pH4.8	pH4.6	pH4.4								
10 ³	1	5/5	2.10	5/5	2.20	5/5	2.28	5/5	2.24	5/5	2.20	5/5	1.66	5/5	1.92	5/5	2.17	0/5	0.00
	2	4/4	1.81	4/4	1.81	4/4	1.74	4/4	1.87	4/4	1.95	4/4	2.02	4/4	0.91	4/4	1.03	0/4	0.00
	3	3/3	1.02	3/3	0.73	3/3	0.73	3/3	0.75	3/3	0.86	3/3	0.85	3/3	0.74	3/3	0.58	0/3	0.00
	4	2/2	0.94	2/2	0.85	2/2	0.87	2/2	0.90	2/2	0.90	2/2	0.91	2/2	0.84	2/2	0.84	0/2	0.02
10 ⁵	1	5/5	2.17	5/5	2.03	5/5	2.13	5/5	2.17	5/5	2.24	5/5	2.28	5/5	2.28	5/5	2.03	0/5	0.00
	2	4/4	1.55	4/4	1.81	4/4	1.74	4/4	1.79	4/4	1.79	4/4	1.91	4/4	1.98	4/4	2.14	0/4	0.03
	3	3/3	1.04	3/3	1.06	3/3	1.07	3/3	1.11	3/3	1.16	3/3	1.24	3/3	1.51	3/3	0.96	0/3	0.02
	4	2/2	0.85	2/2	0.86	2/2	0.86	2/2	0.86	2/2	0.91	2/2	0.90	2/2	0.92	2/2	0.80	0/2	0.03

Inoculation of spore (/ml)		Toxicity (x 10 ⁵ LD ₅₀ /ml)															
10 ³	10 ⁵	wk	pH7.0	pH6.0	pH5.8	pH5.6	pH5.4	pH5.2	pH5.0	pH4.8	pH4.6	pH4.4					
1	1	5/5	7.0	5/5	6.5	5/5	8.1	5/5	6.5	5/5	7.0	0/5	S	0/5	S	0/5	S
2	2	4/4	6.5	4/4	11.0	4/4	11.9	4/4	11.9	4/4	9.4	0/4	S	0/4	S	0/4	S
3	3	3/3	2.8	3/3	7.5	3/3	8.1	3/3	9.4	3/3	11.0	0/3	S	0/3	S	0/3	S
4	4	2/2 +		2/2	0.2	2/2	0.6	2/2	0.3	2/2	2.5	0/2	S	0/2	S	0/2	S
1	1	5/5	8.7	5/5	7.0	5/5	15.3	5/5	11.0	5/5	12.9	5/5	11.0	5/5	9.4	0/5	NT
2	2	4/4	3.7	4/4	6.5	4/4	8.7	4/4	10.1	4/4	11.0	4/4	7.5	4/4	11.0	0/4	NT
3	3	3/3	1.2	3/3	4.4	3/3	7.5	3/3	9.4	3/3	14.1	3/3	7.5	3/3	9.4	0/3	NT
4	4	2/2 +		2/2	1.1	2/2	1.3	2/2	3.3	2/2	3.5	2/2	7.5	2/2	9.4	0/2	NT

S; survive, +; low toxicity, NT; not tested

Inoculation of spore (/ml)		Growth at 600 nm															
10 ³	10 ⁵	wk	pH7.0	pH6.0	pH5.8	pH5.6	pH5.4	pH5.2	pH5.0	pH4.8	pH4.6	pH4.4					
1	1	5/5	0.50	5/5	0.69	5/5	0.51	5/5	0.78	5/5	0.14	0/5	0.00	0/5	0.00	0/5	0.00
2	2	4/4	0.45	4/4	0.35	4/4	0.34	4/4	0.35	4/4	0.36	0/4	0.02	0/4	0.01	0/4	0.01
3	3	3/3	0.46	3/3	0.52	3/3	0.33	3/3	0.28	3/3	0.19	0/3	0.01	0/3	0.00	0/3	0.00
4	4	2/2	0.56	2/2	0.65	2/2	0.69	2/2	0.56	2/2	0.79	0/2	0.01	0/2	0.00	0/2	0.01
1	1	5/5	0.59	5/5	0.61	5/5	0.74	5/5	0.97	5/5	0.98	5/5	1.05	5/5	1.21	0/5	NT
2	2	4/4	0.48	4/4	0.37	4/4	0.33	4/4	0.37	4/4	0.41	4/4	0.54	4/4	0.63	0/4	NT
3	3	3/3	0.56	3/3	0.57	3/3	0.57	3/3	0.52	3/3	0.46	3/3	0.51	3/3	0.51	0/3	NT
4	4	2/2	0.65	2/2	0.64	2/2	0.62	2/2	0.62	2/2	0.79	2/2	0.49	2/2	0.65	0/2	NT