

渉因子を取り除くことができ、リムルス反応を測定することができた。リムル試験によるエンドトキシンの検出限界は約 1 pg/ml なので、この程度のサンプルの希釈なら細菌汚染を検出するのに十分な感度を維持できると思われる。今回の実験では各飲料カテゴリーにつき 1 銘柄の飲料を選んで実験を行ったが、同じカテゴリーに属する飲料でもその成分は様々であると思われる。はさらに多くの銘柄の試験を行いデータを充実させる必要性が認められた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

天野 憲一, 斉藤 志保子, 八柳 潤, 三澤 尚明, 大西 貴弘. *Campylobacter jejuni* LPS と疾患とのかかわり合い. エンドトキシン研究. 11: 23-25, 2009.

大西 貴弘. グリコシル化によるエンドトキシン認識分子の活性調節. エンドトキシン研究. 12:39-43, 2009.

大西 貴弘, 室井 正志, 棚元 憲一. MyD88 非依存性経路における TLR4 二量体形成の役割. エンドトキシン研究. 12: 72-74, 2009.

Ohnishi, T., Muroi, M. and Tanamoto, K. Soluble MD-2 and soluble CD14 inhibit the growth of both gram positive and gram negative bacteria. *Microbiol. Immunol.*, 54: 74-80, 2010.

Moe, K., Mimura, J., Ohnishi, T., Wake, T., Yamazaki, W., Nakai, M. and Misawa, N. The mode of biofilm formation on Smooth surfaces by *Campylobacter jejuni*. *J. Vet. Med. Sci.* 74: 411-416, 2010

大西 貴弘. 国産ミネラルウォーターのエン

ドトキシン濃度測定による水源およびその製造所における細菌汚染検出の試み.

日本食品微生物学雑誌. 27:141-145, 2010

### 2. 学会発表

大西 貴弘, 室井 正志, 棚元 憲一. Dimerization of intracellular domain of TLR4 is not required for the activation of MyD88-independent signaling pathway. 10th Conference of the International Endotoxin and Innate Immunity Society. 平成 20 年 7 月 31 日

室井 正志, 大西 貴弘, 棚元 憲一. TRAF6 distinctively mediates MyD88- and IRAK-1-induced activation of NF- $\kappa$  B. 10th Conference of the International Endotoxin and Innate Immunity Society. 平成 20 年 7 月 31 日

大西 貴弘, 室井 正志, 棚元 憲一. MyD88 非依存性経路活性化における TLR4 二量体形成の役割の解析. 第 14 回日本エンドトキシン研究会. 平成 20 年 10 月 25 日

大西 貴弘. 平成 20 年度日本エンドトキシン研究会奨励賞受賞講演—マクロファージ細胞膜表面におけるエンドトキシン認識機構に関する研究—. 第 14 回日本エンドトキシン研究会. 平成 20 年 10 月 25 日

塩入 利一, 室井 正志, 大西 貴弘, 棚元 憲一. エンドトキシンによる血管内皮細胞のアポトーシス誘導と可溶性 CD14, MD-2 の効果. 第 14 回日本エンドトキシン研究会. 平成 20 年 10 月 25 日

天野 憲一, 横田 伸一, 大西 貴弘, 三澤 尚明 : 自然免疫におけるカンピロバクターとヘリコバクター由来 LPS の炎症性サ

トカイン誘導能. 第 1 回日本カンピロバ  
クター研究会. 平成 20 年 12 月 2 日

大西貴弘, 室井正志, 棚元 憲一. LPS 刺  
激は TRIF を TLR4 から解離させる. 第 82  
回日本細菌学会総会. 平成 20 年 3 月 13  
日

大西 貴弘, 後藤 慶一, 尾上 洋一, 渡辺  
麻衣子, 小西 良子, 工藤 由起子. 清  
涼飲料水における微生物を原因とする苦  
情事例の解析. 第 98 回日本食品衛生学  
会. 平成 21 年 10 月

大西 貴弘, 宮原 美知子, 工藤 由起子,  
鎌田 洋一, 小沼 博隆, 高鳥 浩介, 尾  
上 洋一, 小西 良子. 我が国における過  
去 10 年間の食品中食中毒菌汚染実態調  
査. 第 30 回日本食品微生物学会. 平成  
21 年 10 月

# 総合研究(分担)研究報告書

清涼飲料水の殺菌・除菌方法の妥当性

後藤 慶一

平成 20～22 年度 厚生労働科学研究費補助金(食の安心・安全確保推進研究事業)

清涼飲料水中の汚染原因物質に関する研究

研究代表者 工藤 由起子 (国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部)

分担研究報告書

清涼飲料水の殺菌・除菌方法の妥当性

研究分担者 後藤 慶一 (三井農林株式会社 食品総合研究所)

#### 研究協力者

大塚 佳代子 (埼玉県衛生研究所)

小沼 博隆、荒木 恵美子 (東海大学 海洋学部)

土屋 禎、斎藤 明美 (財団法人 日本食品分析センター 微生物部)

岩田 修二、徳田 一、池本 尚人 (NPO 法人 ILSI Japan 食品微生物部会)

金子 清久 (NPO 法人 ILSI Japan 国際協力委員会)

毎田 恵実 (国立医薬品食品衛生研究所)

#### 研究要旨

大腸菌、サルモネラ、腸球菌および黄色ブドウ球菌はいずれの菌株でも製造基準の 85℃・30 分の加熱条件で生菌数が 7～8 桁程度減少した。一方、枯草菌では芽胞の減少はほとんど見られなかった。セレウス菌では一株はほとんど減少しないのに対し、別の一株は 2～3 桁程度減少し、株による差異が認められた。製造基準の 85℃・30 分加熱の適切な指標菌が必要であることが明らかになった。また、欧米においては日本のような清涼飲料水の具体的殺菌条件は規定しておらず、メーカー側で責任を持って適切な殺菌条件とプロセスを設定し、HACCP に準拠した運用を実施することとされていた。唯一、FDA の発行文書で過去に集団食中毒事故が発生した果実・野菜飲料にて、一般生菌として 5 桁の減少を確実に実施することを製造業者に要求していた。欧米と日本では消費する清涼飲料水の種類が異なり日本に適切な殺菌条件基準が必要であると考えられた。

#### A. 研究目的

清涼飲料水の製造業者は、微生物による製品の腐敗を防止するため、そのリスクがある製品については、密封前あるいは密封後に主として熱による殺菌を行っている。熱によらない清涼飲料水の殺菌手法としては、膜除菌、オゾン殺菌および UV 殺菌がある。

膜除菌は製品中の固形物による目詰まりから用途は水や一部の透明な飲料に限定される。UV 殺菌も製品中の固形物等で UV 光が遮蔽されるシャドウ効果のため、用途は限定される。オゾン殺菌は製品中の有機物でオゾン効果が失われること、およびオゾンの強い酸化力で製品特性が失われることから、

水などに用途は限定される(日本ではほとんど使用されない)。膜や UV が有効な清涼飲料水についても殺菌をより完全にするため、加熱殺菌などと併用して用いられる場合が多いのが実情である。このようなことから、清涼飲料水の殺菌には熱が主に使われている。殺菌の条件は業者の知見に基づくが、食品衛生法に基づく告示(「食品、添加物等の規格基準」昭和 34 年 12 月 28 日厚生省告示第 370 号)で清涼飲料水の規格基準が示されており、この規格・基準を遵守して条件が策定されている。しかしながら、前述の告示で示されている 85°C・30 分の加熱条件の根拠や効力に関しては、十分な知見が無いのが実情である。そこで、本研究では 85°C・30 分での加熱殺菌の効果を検証を行うとともに、清涼飲料水の殺菌条件(製造条件)が海外でどの様に定められているかの調査も併せて実施する。

## B. 研究方法

### 1. 85°C・30 分の殺菌効果の確認

#### 1-1. 供試菌 (1 菌種各 2 株)

菌株の選定に関して、汎用性が高く、入手が容易な点を重視した。

##### (1) 芽胞非形成菌

・大腸菌 (*Escherichia coli*)

NBRC 3301 (JIS L 1902:2008)

NBRC 3972 (JIS K 3705:2008)

・サルモネラ (*Salmonella enterica*)

NBRC 100797 (日本薬局方、*Salmonella* Abony)

NBRC 105726 (ATCC 培地性能試験株)TYPE of *S. Typhimurium*

・腸球菌 (*Enterococcus faecalis*)

NBRC 100482 (JIS K 3705:2008)

NBRC 100480 (JIS K 3705:2008)

・黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*)

NBRC 13276 (JIS K 3703-3:2008)

NBRC 12732 (JIS K 3703-1:2004)

##### (2). 芽胞形成菌

・枯草菌 (*Bacillus subtilis*)

NBRC 3134 (日本薬局方)

NBRC 14117 (JIS K 8008:1992)

・セレウス菌 (*Bacillus cereus*)

NBRC 13494

JCM 2152 (Type strain)

### 1-2. 試験方法

(1) 無菌的に、滅菌済みバイアルに菌液または芽胞液(約  $10^7$  cfu/ml)を 2 ml ずつ分注した。

(2) キャップをしっかりと閉め、85°Cのオイルバスに完全に浸漬し、30 分間加熱後、流水で急冷した。

(3) 無菌的に、菌液または芽胞液 1 ml を 9 ml の滅菌 PBS 溶液に加え、よく混和した。

(4) 芽胞非形成菌では、無菌的に、10 倍希釈菌液の 0.1 ml を標準寒天培地 10 枚に塗抹した。芽胞液では、滅菌 PBS 溶液を用いて、無菌的に 10 倍希釈芽胞液を 100、1,000、10,000 および 100,000 倍希釈液を調製し、それぞれの 0.1 ml を標準寒天培地に塗抹し、35°C で 48 時間培養した。

(5) 生じたコロニー数を計測し、85°C×30 分加熱条件における生残菌数を算出した。

### 2. 海外の清涼飲料水の微生物関連規格基準の情報収集

海外の清涼飲料水の微生物関連規格基準の情報収集については、International Life Sciences Institute of Japan(ILSI Japan: NPO 法人 国際生命科学研究機構)の国際協力委員会や国内の研究協力者からアメリ

カ、イギリス、ドイツの基準や情報を入手した。得られた情報を取り纏め、日本の清涼飲料水の殺菌基準(製造基準)との対比を行い、殺菌の妥当性に関する考察を行った。

## C. 結果

### 1. 85℃・30 分の殺菌効果の確認

#### 1-1. 85℃・30 分の殺菌試験

大腸菌、サルモネラ、腸球菌および黄色ブドウ球菌はいずれの菌株でも 85℃・30 分の加熱条件で生菌数が 7~8 桁程度減少した。一方、枯草菌では芽胞の減少はほとんど見られなかった。セレウス菌に関して、NBRC 13494 はほとんど減少しないのに対し、JCM 2152<sup>T</sup> は 2~3 桁程度減少した(NBRC 13494:D<sub>85℃</sub>=142.9 分および JCM 2152<sup>T</sup>:D<sub>85℃</sub>=8.74 分)。

### 2. 欧米における清涼飲料水の殺菌基準

#### 2-1. 米国における殺菌基準

米国 Food and Drug Administration(FDA)の規定により食品群は、①Acid Food (pH 4.6 以下の食品)、②Low-acid Food (pH 4.6 以上で水分活性 0.85 以上のアルコール飲料以外の食品)、および③Acidified Food (上述の Acid Food や酸を加えて平衡状態になった時の pH が 4.6 以下で水分活性が 0.85 以上)に分類されるが、これらのそれぞれに対して個々の殺菌条件は規定しておらず、メーカー側で責任を持って適切な殺菌条件とプロセスを設定し、HACCP に準拠した運用を実施することとなっていた。

#### 2-2. EU における殺菌基準

EU でも清涼飲料水に対する殺菌条件は規定されておらず、EU の一般衛生指針で規定されているのは各メーカーが製品を製造する際の食品安全・衛生に関する責任、

流通における安全確保についての要求であり、結果的には HACCP の遵守とトレーサビリティの確立が求められているのみであった。食品における微生物に関する規定はあるが、その対象が食肉、卵、牛乳、魚介類等となっており、清涼飲料水は対象とされていなかった。

## D. 考察

### 1. 85℃・30 分の殺菌効果の確認

85℃・30 分の加熱により大腸菌などの栄養細胞は全て死滅していたことから、この条件は耐熱性のない細菌(非芽胞形成細菌)に対しては、既知の情報と同様、十分であると考えられた。芽胞形成細菌であっても、これまでの知見から、芽胞が形成されていない栄養細胞の状態であれば 85℃・30 分の加熱で同様の殺菌効果が得られると考えられる。これらのことから、細菌の栄養細胞を対象とした場合、85℃・30 分の加熱で少なくとも 7 桁程度の菌数の減少が期待できると推察される。枯草菌の芽胞に対しては、85℃・30 分の加熱では 1 桁未満の菌数の減少であった。枯草菌に関しては、115℃における D 値が 0.5~5 分との報告があり、これを 85℃に換算した場合、z 値を 10℃とした場合に D 値は 500~5,000 分で、今回の試験で十分な芽胞の低減が見られなかったことは妥当な結果であると考えられた。セレウス菌の芽胞に関して、NBRC 13494 は 1 桁未満、JCM 2152<sup>T</sup> は 3 桁以上の芽胞の減少が確認された。セレウス菌の 100℃での D 値は 3 分前後であることが一般的に知られているが、血清型によって耐熱性が異なることが知られている。また、芽胞の耐熱性はデンプン分解性と相関があることが知られており、デンプ

ンを分解する菌株は  $D_{95^{\circ}\text{C}}=4.1\sim 7.0$  分、デンプン非分解性の菌株は  $D_{95^{\circ}\text{C}}=6.3\sim 25$  分と報じられている。今回の試験では、*B. cereus* NBRC 13494 は陰性、*B. cereus* JCM 2152<sup>T</sup> および *B. cereus* NBRC 3836 は陽性であったが、耐熱性はデンプンを分解する後者の二株の方が遙かに低い傾向で、既知の情報と同じ傾向であった。

## 2. 海外の清涼飲料水の微生物関連規格基準の情報収集

欧米諸国において、日本のように綿密な微生物の殺菌基準が清涼飲料水では決められていないことが今回の調査で明らかとなった。欧米では炭酸飲料とボトルドウォーターが突出していることが分かる(両者で全体の 80%)。炭酸飲料は炭酸による静菌作用で微生物による腐敗・変敗が起こりにくく、ボトルドウォーターも栄養がほとんどないことから、顕著な微生物による食中毒リスクは低い。果実飲料と野菜飲料は欧米では 13%のシェアであるが、このカテゴリーで微生物に関する規格・基準が米国で定められている。これはアップルを原料とする果実飲料で *E. coli* O-157 による集団食中毒が発生したことを契機に定められたものである。従って、微生物による食中毒が危惧されるものは規格基準のガイドラインを設定するが、大半はそのリスクが低いものであるため、必要以上に規格基準を設定しないのが欧米の基本的なスタンスであると考えられた。一方、日本では茶系飲料が非常に大きなシェアを占める。昨年度の結果から、茶系飲料などの pH が中性に近い飲料では微生物がよく増殖することが明らかになっている。日本では清涼飲料水における集団食中毒の報告は知られていないが、中性飲料では大腸菌群も増殖す

ることが分かっている。そのため、少なくとも大腸菌群などの食中毒リスクを排除するため、清涼飲料水を pH と水分活性で区分し、それぞれに規格基準が設けられている必要があると考えられた。

## E. 結論

一連の試験の結果、 $85^{\circ}\text{C}\cdot 30$  分の加熱殺菌は大腸菌などの栄養細胞を殺滅するに十分な条件であると考えられた。しかしながら、菌種や菌株による違いはあるものの、芽胞に対してこの条件はほとんど効果がないことも検証された。また、セレウス菌芽胞の耐熱性はデンプン分解性と関連することが実証された。

欧米には日本の食品衛生法で定められているような pH や水分活性で区分した清涼飲料水の製造基準はなく、製造業者に対する指針が概説されているのみであった。具体的数値の記述として、米国 FDA が果実・野菜飲料において一般生菌として 5 桁の減少を確実に実施することを製造業者に要求していた。この様な欧米と日本の違いは消費される清涼飲料水の種類が大きく影響していた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

後藤 慶一. DNA 塩基配列に基づくカビ・酵母の同定法-食品の汚染・変敗にかかわる分類群への適用を中心に-. 日本食品微生物学会雑誌, 27: 56-62, 2010.

後藤 慶一、大西 貴弘、渡辺 麻衣子、神田 隆、金澤 裕司、小澤 一弘、餅田 薫、田中 裕子、藤田 理英子、吉田 義博、松本 幸平、大谷 俊次、杉山 寛治、小

沼 博隆、高鳥 浩介、工藤 由起子. 清涼飲料水の開封・口飲み保管により検出される微生物. 日本清涼飲料研究会編、「第 20 回研究発表会」講演集、33-38、2010.

## 2. 学会発表

後藤 慶一、大西 貴弘、渡辺 麻衣子、神田 隆、金澤 裕司、小澤 一弘、餅田 薫、田中 裕子、藤田 理英子、吉田 義博、松本 幸平、大谷 俊次、杉山 寛治、小沼 博隆、高鳥 浩介、工藤 由起子. 清涼飲料水の開封・口飲み保管により検出される微生物. 日本清涼飲料研究会、第 20 回研究発表会、2010.

## G. 知的財産の所有権

なし



# 総合研究(分担)研究報告書

委託研究報告書

清涼飲料水からの真菌の基本的な形態及び同定に関する

簡易マニュアル

高鳥 浩介

平成 20～22 年度 厚生労働科学研究費補助金(食の安心・安全確保推進研究事業)

清涼飲料水中の汚染原因物質に関する研究

研究代表者 工藤 由起子 (国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部)

### 委託研究報告書

清涼飲料水からの真菌の基本的な形態及び同定に関する簡易マニュアル

高鳥 浩介 NPO 法人カビ相談センター

#### 研究要旨

清涼飲料水からの検出頻度が最も高い真菌の属または一部の種を対象とした基本的な形態及び同定に関する簡易マニュアルを作成した。簡易マニュアルは、検出頻度が最も高い属または一部の種を対象とし必ず現れる極めて特徴的な性質を示した場合に用いることのできるもの、およびこれよりも対象とする属または種を増やし特徴的な性質を有するが簡易に同定するための手法がない菌株を対象としたものの2つに分けて作成した。その結果、必ず現れる基本的な形態学的特徴を呈している培養菌株については、清涼飲料水からの検出頻度が高い属または種を対象を絞ることによって同定を簡易に行えることが示された。また、必ずしも現れない形態学的特徴を呈した場合や同定の対象となる属および種を増やした場合には、複数の特徴に基づいた同定が重要であることが示された。

#### A. 研究目的

清涼飲料水からの真菌による異物混入やそれらの喫食事故を未然に防ぐためには、汚染真菌の生態学的特徴を把握した上での適切な衛生指導が重要であり、そのための情報として原因菌の正確な同定が不可欠である。しかし、清涼飲料水からの一般的な真菌同定マニュアルは確立されておらず、同定が困難となっている。そこで本研究では、清涼飲料水からの検出頻度が高い重要な真菌を対象として、基本的な形態学的特徴を指標とした簡易同定マニュアルを作成した。

#### B. 研究方法

簡易マニュアルを(a). 清涼飲料水由来真

菌の簡易同定手法1および(b). 清涼飲料水由来真菌の簡易同定手法2に分けて作成した。(a)清涼飲料水由来真菌の簡易同定手法1とは、検出頻度が最も高い属または一部の種計 24 属または種を対象とし、必ず現れる極めて特徴的な性質を示した場合に用いることのできる簡易同定マニュアルである。(b)清涼飲料水由来真菌の簡易同定手法2とは、(a)よりも対象とする属または種を計 51 属または種に増やし、特徴的な性質を有するが(a)のように簡易に同定するための手法がない菌株を対象とした簡易同定マニュアルとした。

#### C. 結果

(a)清涼飲料水由来真菌の簡易同定手法1

#### ①集落色調による判別法

まず、PDA 上に形成された集落を、暗色系集落および明色系集落に分類する。

次に、暗色系集落を、黒色、オリーブ色、緑色および紫色を呈するグループに分類する。個々の集落の特徴によって *Alternaria*、*Aspergillus niger*、*Exophiala*、*Chaetomium*、*Cladosporium* などに同定される。また、明色系集落を、白色、クリーム色、緑色、朱色および黄色を呈するグループに分類する。個々の集落の特徴によって *Absidia*、*Geotrichum*、*Saccharomyces*、*Acremonium*、*Penicillium*、*Monascus* などに同定される。

#### ②孢子細胞数による判別法

無色孢子形成株で菌糸に隔壁が有る株のグループでは、個々の集落の特徴によって *Geotrichum*、*Penicillium*、*Wallemia*、*Paecilomyces*、*Trichoderma*、*Acremonium*、または *Phoma* と同定される。無色孢子形成株で菌糸に隔壁が無い場合は *Rhizopus* と同定される。無色孢子形成株で酵母型である場合は *Candida*、*Saccharomyces* または *Zygosaccharomyces* と同定される。有色孢子形成株のグループでは、個々の特徴によって *Arthrimum*、*Chaetomium*、*Nigrospora*、*Cladosporium* または *Exophiala* と同定される。

二細胞以上の孢子形成株を、無色孢子形成株および有色孢子形成株に分類する。無色孢子形成株のグループでは、個々の集落の特徴によって *Trichothecium* または *Fusarium* と同定される。有色孢子形成株では、個々の集落の特徴によって *Curvularia* または *Stachybotrys* と同定される。

#### (b)清涼飲料水由来真菌の簡易同定手法2

##### ①集落色調による判別法

PDA 上に形成された集落を、暗色系集落

および明色系集落に分類する。

暗色系集落を、黒色、灰色、オリーブ色、緑色、褐色および紫色を呈するグループに分類する。個々の集落の特徴によって *Alternaria*、*Curvularia*、*Aspergillus niger*、*Stachybotrys*、*Exophiala* などに同定される。

明色系集落を、白色、クリーム色、緑色、朱色、黄色および橙色を呈するグループに分類する。個々の集落の特徴によって *Absidia*、*Aspergillus candidus*、*Geotrichum*、*Monilia* などに同定される。

##### ②湿性集落・乾性集落による判別法

PDA 上に形成された集落を、湿性集落および乾性集落に分類する。個々の集落の特徴によって *Rhizoctonia*、*Trichoderma*、*Geotrichum*、*Acremonium*、*Aureobasidium* などに同定される。

##### ③集落の大きさによる判別

極めて大きい集落を形成する場合は *Absidia*、*Botrytis*、*Rhizopus* または *Trichoderma* と同定される。大きい集落を形成する場合は *Alternaria*、*Curvularia*、*Drechslera*、*Epicoccum*、*Emericella* などに同定される。小さい集落を形成する場合は *Aureobasidium*、*Candida* などに同定される。

##### ④孢子細胞数による判別法

単細胞孢子形成株の無色孢子形成株である場合は、*Absidia*、*Acremonium*、*Aspergillus*、*Aureobasidium*、*Candida* などに同定される。有色孢子形成株は *Botrytis*、*Cladosporium*、*Chaetomium*、*Arthrimum*、*Bippora* などに同定される。

二細胞以上の孢子形成株の無色孢子形成株である場合は *Fusarium* または *Trichothecium* であると同定される。有色孢子形成株は、*Alternaria*、*Curvularia*、

*Drechslera*、*Stachybotrys*、*Ulocladium* のいずれかであると同定される。

#### ⑤培地による判別法

M40Y 寒天培地で発育良好、PDA 上で発育不良である場合は、*Aspergillus restrictus*、*Eurotium*、*Wallemia* または *Zygosaccharomyces* のいずれかであると同定される。

#### ⑥培養温度による判別法

30℃以上で発育する場合は *Absidia*、*Aspergillus*、*Mucor*、*Zygosaccharomyces*、*Rhizopus* または、*Saccharomyces* 30℃以下で発育では *Cladosporium*、*Doratomyces*、*Botrytis*、*Bispora*、*Epicoccum* などに同定される。

#### ⑦色素産生による判別法

黄色を呈する場合は *Penicillium chrysogenum* または *Eurotium*、橙色を呈する場合は *Epicoccum*、*Aspergillus versicolor*、*Fusarium* または *Eurotium*、紫色を呈する場合は *Fusarium* または *Emericella*、朱色を呈する場合は *Penicillium islandicum*、*Monascus*、*Eurotium* または *Fusarium*、黒色を呈する場合は *Stachybotrys*、*Nigrospora* または *Aureobasidium*、藍色を呈する場合は *Fusarium* と同定される。

#### ⑧臭気による判別法

墨汁臭を発する場合は *Penicillium*、干し草臭は *Trichoderma*、また甘味臭は *Geotrichum* と同定される。

### D. 考察

清涼飲料水からの検出頻度が最も高い属または一部の種を対象とし極めて特徴的な性質を示した場合に用いることのできる簡易同定マニュアル、および対象とする属または

種を増やし、特徴的な性質を有するが簡易に同定するための手法がない菌株を対象とした簡易同定マニュアルの2つに分けてマニュアルの作成を行った。

本研究の結果から、必ず現れる基本的な形態学的特徴を呈している培養菌株については、清涼飲料水からの検出頻度が高い属または種を対象を絞ることによって同定を簡易に行えることが示された。また、必ずしも現れない形態学的特徴を呈した場合や同定の対象となる属および種を増やした場合には、複数の特徴に基づいた同定が重要であることが示された。

今後は、同定の対象となる属および種をさらに増やし、清涼飲料水由来の真菌を幅広くカバーした詳細な同定マニュアルを作成したい。

### E. 結論

清涼飲料水からの検出頻度が高い真菌の属または一部の種を対象とし、集落性状およびプレパラート顕微鏡像の基本的な形態を用いた同定に関するマニュアルを作成した。その結果、清涼飲料水由来の属および種合計 24 または 51 群の同定が可能となるマニュアルの作成に成功した。また、必ずしも現れない形態学的特徴を呈した場合や同定の対象となる属および種を増やした場合には、複数の特徴に基づいた同定が重要であることが示された。

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌	巻号	ページ	出版年
Hara-Kudo, Y., Konishi, N. Otsuka, K., Hiramatsu, R. Tanaka, H., Tsuchiya, T., Konuma, H. and Takatori, K.	Detection of Verotoxigenic <i>Escherichia coli</i> O157 and O26 in food by plating methods and LAMP method: A collaborative study	Int. J. Food. Microbiol.	122 巻 1-2 号	156- 161	2008
Asai, Y., Kaneko, M., Ohtsuka, K., Morita, Y., Kaneko, S., Noda, H., Furukawa, I., Takatori, K. and Hara-Kudo, Y.	<i>Salmonella</i> prevalence in seafood imported into Japan	J. Food Prot.	71 巻	1460- 1464	2008
Hara-Kudo, Y., Niizuma, J., Goto, I., Iizuka, S., Kamakura, K., Kaji, Y., Suzuki, S. and Takatori, K.	Surveillance of Shiga toxin-producing <i>Escherichia coli</i> in Beef with Effective Procedures, Independent of Serotype	Foodborne Pathog. Dis.	5 巻	98-104	2008
Hayashidani, H., Iwata, T., Yamaguchi, F., Hara-Kudo, Y., Okatani, T. A., Watanabe M., Lee, K., Kumagai, S.	Survival of pathogenic <i>Yersinia enterocolitica</i> in vacuum-packed or non-vacuum-packed pork at low temperature	Biocont. Sci.	13 巻	139- 144	2008
占部 友理恵, 薬袋 裕二, 芳賀 実, 小西 良子, 石黒 厚, 工藤 由起子	香辛料におけるサルモネラの生残性と調理食品中での増殖性	食品衛生学雑誌	49 巻	70-75	2008
Hara-Kudo, Y. and Takatori, K.	Microbial quality of liquid egg and <i>Salmonella</i> infection status in Japan	J. Food Hyg. Soc. Jpn.	50 巻 1 号	34-40	2009
Hidaka, A., Hokyo, T., Arikawa, K., Fujihara, S., Ogasawara, J., Hase, A., Hara-Kudo, Y. and Nishikawa, Y.	Multiplex real-time PCR for exhaustive detection of diarrhoeagenic <i>Escherichia coli</i>	J. Appl. Microbiol.	106 巻	410- 420	2009
Nemoto, J., Sugawara, C., Akahane, K., Hashimoto, K., Kojima, T., Ikedo, M., Konuma, H. and Hara-Kudo, Y.	Rapid and specific detection of the thermostable direct haemolysin gene in <i>Vibrio parahaemolyticus</i> by loop-mediated isothermal amplification	J. Food Prot.	72 巻 4 号	748- 754	2009

野田 裕之、千須和美 母衣、金子 通治、尾上 洋一、高鳥 浩介、工藤 由起子	ブラックタイガーエビに接種した <i>Salmonella</i> Weltevreden および <i>S. Senftenberg</i> の冷凍保存下における生残性	食品衛生学雑誌	50 巻 2 号	85-88	2009
工藤 由起子、後藤 慶一、尾上 洋一、渡辺 麻衣子、李 謙一、熊谷 進、小西 良子、大西 貴弘	清涼飲料水における微生物を原因とする苦情事例の解析	食品衛生学雑誌	50 巻 6 号	315-320	2009
Ohtsuka, K., Tanaka, M., Ohtsuka, M., Takatori, K. and Hara-Kudo, Y.	Comparison of detection methods for <i>Escherichia coli</i> O157 in beef livers and carcasses	Foodborne Pathog. Dis.	7	1563-1567	2010
Watanabe, M., Tsutsumi, F., Lee, K., Sugita-Konishi, Y., Kumagai, S., Takatori, K., Hara-Kudo, Y. and Konuma, H.	Enumeration of Fungi in Fruits by the Most Probable Number Method	J. Food Sci.	75	M564-M567	2010
Watanabe, M., Masaki, H., Mori, T., Tsuchiya, T., Konuma, H., Hara-Kudo, Y., Sugita-Konishi, Y. and Takatori, K.	Inactivation effects of UV irradiation and ozone treatment on the yeast and mold in mineral water	J. Food Prot.	73	1537-1542	2010
Watanabe, M., Lee, K., Goto, K., Kumagai, S., Sugita-Konishi, Y. and Hara-Kudo, Y.	Rapid and effective DNA extraction method with bead grinding for a large amount of fungal DNA	J. Food Prot.	73	1077-1084	2010
田中 廣行、土屋 禎、大島 赴夫、鈴木 達也、工藤 由起子	技能試験データに基づく細菌数の不確かさの推定	日本食品微生物学会雑誌	27	158-162	2010
森 哲也、田中 廣行、和田 真太郎、伊藤 武、宇田川 藤江、工藤 由起子	市販の生食用カット野菜、カット果実およびスプラウトの微生物汚染調査	日本食品微生物学会雑誌	27	163-170	2010
後藤 慶一、大西 貴弘、渡辺 麻衣子、神田 隆、金澤 裕司、小澤 一弘、餅田 薫、田中 裕子、藤田 理英子、吉田 義博、松本 幸平、大谷 俊次、杉山 寛治、小沼 博隆、高鳥 浩介、工藤 由起子	清涼飲料水の開封・口飲み保管により検出される微生物	日本清涼飲料研究会編	「第 20 回研究会発表会」講演集	33-38	2010

Hara-Kudo, Y. and Takatori, K.	Contamination level of food borne pathogens in food associated with the infections	Epidemiol. Inf.			印刷中
Watanabe, M., Yonezawa, T., Lee, K., Kumagai, S., Sugita-Konishi, Y., Goto, K. and Hara-Kudo, Y.	Evaluation of genetic markers for identifying isolates to of the species of the genus <i>Fusarium</i>	J. Sci. Food Agric.			印刷中
Watanabe, M., Tsutsumi, F., Konuma, R., Lee, K., Kawarada, K., Sugita-Konishi, Y., Kumagai, S., Takatori, K., Konuma, H. and Hara-Kudo, Y.	Quantitative analysis of mycoflora on commercial domestic fruits in Japan	J. Food Prot.			印刷中
Watanabe, M., Yonezawa, T., Lee, K., Kumagai, S., Sugita-Konishi, Y., Goto, K. and Hara-Kudo, Y.	Molecular phylogeny of the higher and lower taxonomy of the <i>Fusarium</i> genus and differences in the evolutionary histories of multiple genes	BMC Evol. Biol.			投稿中

