=原 著=

気密性のある容器包装に詰められた食品の 細菌汚染実態

堀川和美^{*1,†}・濱崎光宏^{*1}・村上光一^{*1}・石黒靖尚^{*1}
臂 博美^{*2}・長野英俊^{*3}・小熊恵二^{*4}

(^{*1}福岡県保健環境研究所, ^{*2}福岡県京築保健福祉環境事務所,

^{*3}福岡県田川保健福祉環境事務所, ^{*4}岡山大学)

(受付 平成 17 年 3 月 25 日)

(受理 平成 17 年 6 月 28 日)

The Investigation of Bacterial Contamination in the Foods Packaged in Hermetically Sealed Containers

Kazumi HORIKAWA^{*1,†}, Mitsuhiro HAMASAKI^{*1}, Koichi MURAKAMI^{*1},
Yasuhisa ISHIGURO^{*1}, Hiromi HIJI^{*2}, Hidetoshi NAGANO^{*3} and Keiji OGUMA^{*4}

(^{*1}Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences, Dazaifu, Fukuoka 818-0135;

[†]Corresponding author)

(^{*2}Fukuoka Keichiku Office for Health, Human Services and Environmental Issues,
Yukuhashi 824-0005)

(^{*3}Fukuoka Tagawa Office for Health, Human Services and Environmental Issues,
Tagawa 825-8577)

(^{*4}Okayama University, Shikata-cho, Okayama 700-8558)

To estimate the risk of microbial hazard in foods packaged in hermetically sealed containers, forty-nine such foods, purchased at markets in Fukuoka, were tested for pH and water activity. The pH and water activity of eighteen foods were in excess of 4.6 and 0.94, respectively. For five out of the eighteen foods the sterilizing or heating method was not indicated. Bacterial contamination of food packaged in hermetically sealed containers produced in Fukuoka was examined from the perspective of food hygiene. Five types of foods designated A to E, each type consisting of 15 samples (3 lots×5 samples), were produced in Fukuoka. In each sample, aerobic bacteria, aerobic spore-formers, growth of clostridia organisms, mouse lethality with botulinum toxin, water activity and pH were examined. Bacteria grown on standard agar medium were used for homologous search for 16S rDNA base sequence by blast research. The pH and water activity of four food types (A, B, C and D) were in excess of 4.6 and 0.94, respectively. In food A, all 15 samples demonstrated growth of bacteria on standard agar plates, and 8 samples on clostridia medium. Bacteria detected on standard agar medium were identified as aerobic spore-forming bacteria (*Bacillus*, *Paenibacillus*, *Virgibacillus*, *Brevibacillus*), *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Kocuria*, *Methylobacterium*, and *Microbacterium*. In food C, each sample in three lots was contaminated with the organisms of Genus *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. firmus*, or *B. subtilis*), respectively. In food E, the water activity of all 15 samples was below 0.85. All of them, however, were also contaminated with the bacteria of Genus *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. simplex*, or *Bacillus* spp.).

A label saying that “the contents were heated under pressure to sterilize the food after

[†] 連絡先

^{*1} ☎818-0135 太宰府市向佐野 39

^{*2} ☎824-0005 行橋市中央 1-2-1

^{*3} ☎825-8577 田川市伊田松原通り 3292-2

^{*4} ☎700-8558 岡山市鹿田町 2-5-1

packaging in a hermetically sealed container” was put on two types of foods, but one of them was contaminated with bacteria. No sterilization methods were described in the labels of the other three food types, and two of them demonstrated bacterial contamination. In order to prevent food poisoning, the makers of these foods should describe the proper conditions for sterilization. In cases of insufficient sterilization, the foods must be kept under cool conditions and the period of safe consumption should be shown in a label under the Food Hygiene Act.

Key words: The foods packaged in hermetically sealed containers, 16S rDNA, Low acid, Water activity, pH

緒 言

日本の食品衛生法で容器包装詰加圧加熱殺菌食品とは、清涼飲料水、食肉製品、鯨肉製品および魚肉ねり製品を除く食品を気密性のある容器包装に入れ、密封した後加圧加熱殺菌したものを指す¹⁾。当該食品の成分規格は、「発育し得る微生物が陰性でなければならないこと」である。また、製造基準に定められた殺菌方法は、①原材料等に由来して当該食品中に存在し、かつ発育し得る微生物を死滅させるのに十分な効力を有する方法であること。②pHが4.6を超え、かつ水分活性(*Aw*)が0.94を超える食品については、ボツリヌス菌を死滅させるために、中心部の温度を120℃、4分加熱する方法又はこれと同等以上の効力を有する方法であることと規定されている。この殺菌条件を満たすため、かつては容器包装詰加圧加熱食品の包装材は、金属、ガラス類等に限られていた。しかし、近年では包装材の改良に伴い合成樹脂製のものも使われるようになってきた。また、容器包装詰加圧加熱食品と類似する包装形態をとりながら殺菌方法について明示されていない気密性のある容器に詰められた食品（以下、気密性容器包装詰食品と略す）が多く見られ、これらは容器包装詰加圧加熱食品と区別しにくい。一方、国内で生産された気密性容器包装詰食品が原因と判明したボツリヌス食中毒は、1984年6月熊本県で製造された「真空包装辛子蓮根」を原因とし11名の死者を出した事例（A型）、1993年1月秋田県で「里芋の缶詰」を原因とする事例（A型）や1999年8月千葉県で「真空包装されたハヤシライスの具」が原因と考えられる事例（A型）などが発生している²⁾。また、外国産の気密性容器包装詰食品が原因と判明したボツリヌス食中毒は、1969年ドイツ産の「キャビアの瓶詰」が原因と考えられる事例（B型）や1998年イタリア産の「グリーンオリーブの瓶詰」を原因とする事例（B型）が報告されている²⁾。一方、内藤ら³⁾は加工食品の品質管理の観点から、缶、瓶詰、プラスチックなどに包装詰めされた加熱食品のボツリヌス菌以外の細菌汚染事例について報告している。また、松田ら⁴⁾は市販低酸性食品缶詰の商業的無菌性について調査し、114検体中2缶(1.75%)が商業的無菌性を保持していなかったと報告している。駒木ら⁵⁾は市販果実類缶詰、ガラス瓶詰およびプラスチック

詰製品について調査し、特定の製品において生菌数が多かったと報告している。しかし、市販されている気密性容器包装詰食品について、pHおよび*Aw*とともに細菌汚染を調査し、汚染菌種の同定を行った報告は少ない。

そこで本稿では、食品衛生の見地から福岡県内で販売されている49品目の気密性容器包装詰食品のpHおよび*Aw*を調査し、福岡県内で製造されている5品目についてpH、*Aw*および細菌数ならびに汚染菌の同定を行った。

方 法

1. 対象食品

福岡県内で販売されている気密性容器包装詰食品49品目について、pHおよび*Aw*を測定した。細菌汚染実態調査対象には、調査した49品目の中から福岡県内で製造されている5品目を選択した。対象食品には、殺菌について表示のない食品A、B、CおよびE、容器包装後加圧加熱殺菌した旨の表示がある食品Dを用いた（Fig. 1, Table 1）。保存方法は、食品Bが要冷蔵でほか4品目は常温保存であった。試験には、食品1品目につき製造日の異なる3ロットについてそれぞれ5検体、合計15検体を用いた。

2. 試料の水分活性およびpH測定

*Aw*はデカゴン社製アクアクラブ、pHは東亜ディーケーケー(株)製のHM-30Gで電極は同社製GST-5721Cを用いた。*Aw*は液体がある場合は液体を、固形の場合は固形そのものを使用した。pH測定には試料2倍希釈液を用いた。測定は1検体につき2回実施し、平均を測定値とした。

3. 菌数測定

3.1 試料原液の調製

試験品は100gまたは全量をストマッカー袋（栄研器材(株)製、ストマフィルターS）に無菌的に採取し、等重量の滅菌蒸留水を加えストマッカーで2分間混和した。この2倍希釈液を試料原液とした。試料原液そのままを非加熱試料、試料原液を65℃、20分間加熱したものを加熱試料とした。非加熱試料は一般細菌数、クロストリジウム属菌数、ボツリヌス菌検査およびpH測定に使用した。加熱試料は好気性芽胞形成菌およびボツリヌス菌検査に使用した。加熱条件は、*Clostridium botuli-*

Fig. 1. Foods used in this study.

Table 1. Foods used in this study

Name of foods	Grouping	Type of packaging	Method of sterilization
A Fried fish paste	Food made fish paste	No mention (vacuum-seal)	No mention
B Seasoned boiled egg	Household dish	No mention (vacuum-seal)	No mention (Keep refrigerated).
C Salty gristle	Household dish (meat product)	No mention (vacuum-seal)	The vacuum-packed contents were heated to sterilize.
D Oden	Household dish	Retort pouched food	After packaging in a hermetically sealed container, the contents were heated under pressure to sterilize.
E Smoked konnyaku	Dainty	No mention (vacuum-seal)	No mention

num E 型菌の芽胞は 70℃ から 80℃ で死滅する可能性が高いこと⁶⁻⁸⁾および広く芽胞形成菌を測定することを考慮して設定した。

3.2 一般細菌および好気性芽胞形成菌数測定

2 倍希釈液を必要に応じて 10 倍段階希釈を行い、各段階希釈液 1 ml に 121℃, 20 分滅菌後 50℃ に保温した標準寒天培地 (栄研化学) 約 20 ml を加え混和、固化後、35℃, 48±3 時間培養した。細菌数の計測は、希釈段階毎に 2 枚実施し、コロニー数を平均した。

3.3 クロストリジウム属菌数

クロストリジウム属菌数測定には 17.5×7 cm のパウチ袋を使用した。10 倍段階希釈した試料液 1 ml をパウチ袋に入れ、121℃, 15 分間滅菌後 55℃ に保温したクロストリジア測定用培地 (日水) 10 ml を加え、よく混和した。これらを 35±1℃, 1~5 日間培養後、褐色から黒色の集落を計測し、クロストリジア属菌数とした。

4. ボツリヌス菌検査

非加熱および加熱処理試料 1 ml を 2 本のクックド

ミートブイヨンに接種し、30℃, 7 日間培養した。本実験に使用したクックドミートブイヨンにはブドウ糖を 0.3% および可溶性デンプンを 0.2% 添加した。培養後 7 日目のクックドミートブイヨンは、非加熱および加熱処理材料各 2 ml を 15 ml 滅菌プラスチック遠心管に 1 検体分ごとに集め、これを 3,000 rpm, 20 分間遠心した。遠心上清を 0.45 μm のミリポアフィルターでろ過した。毒素試験には、いずれも SPF, ddY 系、雌、4 週齢マウスを用い、各試験検体につき 2 匹を使用した。各毒素試験用試料原液を 0.5 ml ずつマウス腹腔内接種した。マウスの観察は、接種後 4 日間実施した。

5. コロニーの同定

発育したコロニーの同定は、細菌の 16S rDNA の塩基配列を決定し、相同性検索を行い決定した。

DNA の調整: 培養菌を 1/10 TE バッファー [1 mM Tris-HCl (pH 8.0), 0.1 mM EDTA (pH 8.0)] 1 ml に懸濁し、10,000 rpm, 10 分間遠心した後、上清を除去した。ペレットに 0.1 ml の 1/10 TE バッファーを加え、再懸

Table 2. The pH and *Aw* of forty-nine foods packaging in a hermetically sealed container

The labeling of sterilizing or heating method	pH	Number of foods					
		<4.6			≥4.6		
		<i>Aw</i>	<0.85	0.85 to 0.94	≥0.94	<0.85	0.85 to 0.94
After packaging in a hermetically sealed container, the contents were heated under pressure ti sterilize.		0	0	1	0	10	9
After packaging in a container included gas by new method, the contents were cooked.		0	0	0	0	1	3
The vacuum-packed contents were heated to sterilize.		0	0	0	0	1	1
Heated to sterilize.		0	0	0	0	1	0
No mention		2	0	7	2	6	5
Total		2	0	8	2	19	18

濁した。100℃, 15 分間加熱後, 10,000 rpm で 10 分間遠心し, 上清を DNA 溶液とした。

PCR および塩基配列の決定: 得られた DNA 溶液について 16S rRNA をコードする領域に設定されたユニバーサルプライマーセット [フォワード] 大腸菌の 341-357 F⁹⁾, [リバース] 全生物 907-926 R⁹⁾ を用いて PCR を行った。PCR 反応液は, DNA 溶液 3 μ l, 各プライマー 0.1 μ M, 10×PCR バッファー 5 μ l, Taq DNA ポリメラーゼ 2.5 U (TaKaRa BIO Inc.), dNTPs 0.2 mM および滅菌蒸留水を加え全量 50 μ l とした。サーマルサイクラー (宝酒造 (株) 製 TaKaRa PCR Thermal Cycler SP TP400) を用い, 95℃, 30 秒間熱変性, 51℃, 30 秒間アニーリング, 72℃, 30 秒間伸長の各反応を 40 回繰り返した。PCR 産物 10 μ l を 2% アガロースゲルで電気泳動し, 約 560 bp の増幅産物の有無を確認した。得られた PCR 産物を Montage PCR centrifugal filter devices (ミリポア社製) で精製し, シークエンス反応の鋳型とした。塩基配列の決定は, DYEnamic ET Terminator Cycle Sequencing Kit (アマシャム社製) を用いて行った。PCR と同一のプライマーを用いてサイクルシークエンス反応を行い, 反応産物をエタノール沈殿後, DNA オートシークエンサー (アプライドバイオシステムズ社製, ABI Prism 377 DNA Sequencer) で塩基配列を決定した。

分子系統樹解析には, GenBank にすでに登録されている細菌の 16S rDNA の塩基配列を比較対照として使用した。得られた塩基配列および対象の塩基配列を CLUSTAL W 法 (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/search/clustalw-j.html>) で多重整列し分子系統樹を作製した。分子系統樹の検定は, ブートストラップ法で行った。

結 果

1. 試料の pH および *Aw*

福岡県内で販売されていた 49 品目 (Table 2): pH が 4.6 を超え, かつ, *Aw* が 0.94 を超える食品は, 18 品目 (36.7%) であった。18 品目の殺菌などに関する表示は,

Table 3. pH and *Aw* of these foods

The name of foods	No. of lots	Average of five samples	
		pH	<i>Aw</i>
A Fried fish paste	1	6.41	0.98
	2	6.43	0.98
	3	6.42	0.98
B Seasoned boiled egg	1	6.57	0.99
	2	6.61	0.99
	3	6.58	0.99
C Salty gristle	1	6.70	0.98
	2	6.67	0.98
	3	6.75	0.97
D Oden	1	6.26	>0.99
	2	6.34	>0.99
	3	6.30	>0.99
E Smoked konnyaku	1	6.82	0.73
	2	6.90	0.77
	3	7.51	0.82

9 品目が気密性容器に密封後加圧加熱殺菌, 3 品目が新含気調理食品, 1 品目が真空高熱殺菌, ほか 5 品目はなかった。殺菌などに関する表示がなかった 5 品目は, 米飯加工品 2 品目, 魚介類加工品, 卵加工品および豆加工品各 1 品目であった。範囲を広げ, 米国の FDA で low-acid food 低酸性食品と定義している pH が 4.6 を超え, かつ, *Aw* が 0.85 を超える食品に該当するものは, 37 品目 (75.5%) であり, このうち殺菌方法に関する表示がないものが 11 品目であった。

細菌検査に使用した 5 品目: 各試験品 1 ロット 5 サンプルの *Aw* および pH の平均値を Table 3 に示した。各試験品の pH は, いずれも 4.6 を超えていた。ロット差は, 食品 A, B, C および D は 0.1 未満であったが, 食品 E は 0.6 以上であった。食品 E のロット 1 の pH の平均は 6.82, ロット 2 が 6.90 およびロット 3 が 7.51 で, ロット間に差が見られた。*Aw* は, 5 品目のうち食品 E のみが 0.94 未満で, ロット 1 が 0.73, ロット 2 が 0.77 およびロット 3 が 0.82 で pH 同様ロット間に差が見られた。ほか 4 品目のロット間の差は 0.01 以下であった。

Table 4. Average number of standard plate count and clostridia in each lot of foods

The name of foods	No. of lots	Standard plate count Min.-Max. (average), CFU/g		Clostridia Min.-Max., CFU/g
		Non heating	Heating, 65°C, 20 min	
A Fried fish paste	1	3-38 (15)	2-5 (3)	0-1
	2	6-23 (14)	3-13 (7)	0-1
	3	6-63 (24)	2-19 (9)	0-2
B Seasoned boiled egg	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0
C Salty gristle	1	0-1,700 (340)	0	0
	2	0-83 (17)	0	0
	3	0-4,100 (820)	0	0
D Oden	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0
E Smoked konnyaku	1	15,000-29,000 (23,000)	12,000-24,000 (19,000)	0
	2	9,700-19,000 (14,000)	4,200-21,000 (10,000)	0
	3	3-33 (14)	3-9 (5)	0

細菌検査に使用した5品目のうち pH が 4.6 を超え、かつ、 A_w が 0.94 を超える食品は、食品 A, B, C および D の 4 品目であった。殺菌方法は、食品 A, B および E には表示がなく、食品 C が真空高熱殺菌、食品 D が気密性容器に密封後加圧加熱殺菌であった。

2. 細菌数および毒性試験

一般細菌数、好気性芽胞形成菌およびクロストリジウム属菌数：5 品目の細菌数測定結果を Table 4 に示した。食品 B および D では、いずれの検体からも一般細菌および好気性芽胞形成菌は検出されなかった。食品 A は、すべての検体から 100 CFU/g 以下の一般細菌および好気性芽胞形成菌が認められた。食品 C は 3 ロット検査した結果、各ロット 5 検体中 1 検体から一般細菌が 8.3×10^1 , 1.7×10^3 , 4.1×10^3 CFU/g 検出された。食品 E は、3 ロット中 2 ロット 10 検体から約 $10^3 \sim 10^4$ CFU/g、ほか 1 ロット 5 検体から 100 CFU/g 以下の一般細菌および好気性芽胞形成菌が検出された。食品 E の細菌汚染は、pH および A_w と同様にロットにより大きく異なっていた。食品 A および E の好気性芽胞形成菌数は一般細菌数の約 50～80% であった。クロストリジウム属菌は食品 A (15 検体中 8 検体) からのみ検出され、ほか 4 品目の食品からは検出されなかった。8 検体中 4 検体のクロストリジア属菌は *Clostridium sporogenes* および *C. cochlearium* と同定されたが、ほか 4 検体は同定できなかった。

毒性試験：試験品のクックドミート培養液からはいずれもマウスを斃死させる毒性物質は検出されなかった。

3. 標準寒天培地発育細菌の同定

標準寒天培地を用いて好気培養後菌が発育した食品は、A, C および E であった (Table 4)。食品 A を汚染していた菌の種類は、*Bacillus* 属など 9 属であった (Table 5)。非加熱および加熱処理試料両者から検出された細菌は、好気性芽胞菌である *Bacillus* 属、*Paeniba-*

cillus 属および *Virgibacillus* 属の細菌であった。非加熱試料からのみ検出された細菌は、*Staphylococcus* 属、*Microbacterium* 属、*Kocuria* 属、*Pseudomonas* 属および *Brevibacillus* 属の 5 属であった。*Methylobacterium* 属は、加熱検体から検出された。食品 A から検出された *Bacillus* 属、*Paenibacillus* 属、*Virgibacillus* 属の塩基配列を基に作製した分子系統樹を Fig. 2A に示した。非加熱の検体から検出された菌と加熱した検体から検出された菌を比較すると、いずれの属菌からも同じ系統に所属する菌が検出された。このときの塩基配列の相同性は 100% であり、非加熱の検体から検出された菌と加熱処理された検体から検出された菌は同一菌種であると推測された。食品 C は 2 検体の非加熱試料から *B. subtilis* および *B. firmus* が、また 1 検体の非加熱試料から *B. subtilis* が検出された。食品 E は、ロット 1 および 2 から *B. simplex* と *Bacillus* sp., ロット 3 は *B. subtilis*, *B. simplex* および *Bacillus* sp. が検出された。食品 E から検出された *Bacillus* 属の塩基配列を基に作製した分子系統樹を Fig. 2E に示した。食品 A と同様に非加熱の検体と加熱処理された検体から塩基配列の相同性が 100% の菌が検出されており、同一菌種であることが推測された。

考 察

食品衛生法ではボツリヌス菌による食中毒を防止するため、pH が 4.6 を超え、かつ、 A_w が 0.94 を超える容器包装詰加圧加熱殺菌食品の加熱方法は、中心部の温度を 120°C、4 分以上加熱する方法またはこれと同等以上の効力を有する方法で行うことを義務づけている¹⁾。また、気密性容器包装詰食品でのボツリヌス食中毒事例²⁾を踏まえ、厚生労働省では気密性のある容器包装に入れられ、pH が 4.6 を超え、かつ、 A_w が 0.94 を超える食品 (容器包装詰加圧加熱食品を除く) については、中心

Table 5. Closest relative for bacteria growing on standard agar media

No.	Name	Lot	Treatment of heating	Genus	Species	Blast, %
A	Fried fish paste	1	Non heating	<i>Bacillus</i> sp.		97
				<i>Paenibacillus favisporus</i>		97
				<i>Virgibacillus proomii</i>		99
				<i>Pseudomonas fluorescens</i>		99
			Heating	<i>Bacillus licheniformis</i>		99
				<i>Bacillus sonorensis</i>		99
				<i>Bacillus</i> sp.		96
				<i>Paenibacillus</i> sp.		99
				<i>Virgibacillus proomii</i>		99
		2	Non heating	<i>Bacillus licheniformis</i>		99
				<i>Bacillus pumilus</i>		99
				<i>Bacillus</i> sp.		96
				<i>Paenibacillus chibensis</i>		99
				<i>Virgibacillus proomii</i>		99
				<i>Brevibacillus</i> sp.		99
				<i>Staphylococcus equorum</i>		100
			Heating	<i>Bacillus licheniformis</i>		100
				<i>Bacillus pumilus</i>		99
				<i>Bacillus sonorensis</i>		98
				<i>Paenibacillus chibensis</i>		99
				<i>Virgibacillus proomii</i>		99
		3	Non heating	<i>Bacillus licheniformis</i>		99
				<i>Bacillus sonorensis</i>		99
				<i>Paenibacillus</i> sp.		98
				<i>Brevibacillus</i> sp.		99
				<i>Kocuria rhizophila</i>		99
				<i>Microbacterium</i> sp.		99
				<i>Staphylococcus warneri</i>		99
			Heating	<i>Bacillus licheniformis</i>		99
				<i>Bacillus pumilus</i>		99
				<i>Bacillus</i> sp.		98
C	Salty gristle	1	Non heating	<i>Bacillus firmus</i>		99
				<i>Bacillus subtilis</i>		100
		2	Non heating	<i>Bacillus firmus</i>		99
				<i>Bacillus subtilis</i>		99
		3	Non heating	<i>Bacillus subtilis</i>		100
E	Smoked konnyaku	1	Non heating	<i>Bacillus</i> sp.		99
			Heating	<i>Bacillus</i> sp.		99
				<i>Bacillus simplex</i>		99
		2	Non heating	<i>Bacillus</i> sp.		99
			Heating	<i>Bacillus</i> sp.		98
		3	Non heating	<i>Bacillus</i> sp.		99
				<i>Bacillus simplex</i>		99
			Heating	<i>Bacillus</i> sp.		100
				<i>Bacillus subtilis</i>		100

部を 80℃ で 20 分間の熱を加え、10℃ 以下で保存することを指導している¹⁰⁾。さらに、食品を若干の気体透過性を有する容器に入れ、密封した後に加圧加熱する食品であって、pH が 4.6 を超え、かつ、*Aw* が 0.94 を超えるものにあつては、中心部の温度を 120℃ で 4 分間加熱

する方法もしくはこれと同等以上の効力を有する方法で加熱殺菌するか、または 10℃ 以下で保存すること、この両方法が実施されない場合は、ボツリヌス接種実験によりボツリヌス毒素の産生が認められないことを証明するよう指導している¹¹⁾。

Fig. 2. Phylogenetic analyses of bacteria isolated from the food A and E.

Nucleotide sequence of 16S rDNA of bacteria isolated from the food A and E were determined and analyzed by the neighbor-joining method. Bootstrap values (in percentages) for 1,000 replicated tree are given at appropriate nodes. A: the food A (28 colonies). E: the food E (45 colonies). The GeneBank accession number of the strains used are as follows: *Paenibacillus chibensis*, AB073194; *P. motobuensis*, AY741810; *Virgibacillus proomii*, AJ012667; *Bacillus pumilus*, AY112667; *B. sonorensis*, AF302124; *B. licheniformis*, CP000002; *B. simplex*, D78478; and *B. subtilis*, AY114158. UHFFP: bacteria isolated from the food A without heating, HFFP: bacteria isolated from the food A heated at 65°C for 20 min, UHFK: bacteria isolated from the food E without heating, HSK: bacteria isolated from the food E heated at 65°C for 20 min.

近年食品業界における方向性は常温・長期保存性食品の生産に向いており、食品が気密性のある容器に包装詰めされているケースが多い。なかにはロングライフ (LL) 牛乳のように、殺菌時間と温度について、食味を損わずかつ安全性が確保できる殺菌温度が確立されているものもあるが、流通市場では「容器包装詰加圧加熱食品」と見た目には区別できない気密性容器包装詰食品が多く販売されている。

本研究で筆者らは、福岡県内で流通している気密性容器包装詰食品 49 品目について、pH および A_w を調査した。その結果、pH が 4.6 を超え、かつ、 A_w が 0.94 を超える食品は 18 品目 (36.7%) で、このうち殺菌方法に関する表示のないものが 5 品目であった。筆者らは福岡県内で製造されている気密性容器包装詰食品の細菌汚染の実態を明らかにするため 49 品目のうち、福岡県内で製造される各種気密性容器包装詰食品 5 品目について、

pH、 A_w に加え細菌検査を行った。食品 A、B、C および D は、pH が 4.6 を超え、かつ、 A_w が 0.94 を超える食品に該当した。食品 D には容器包装後加圧加熱殺菌、また、食品 B には要冷蔵 (1~10°C) の表示があり、両食品から細菌は検出されず、細菌制御が十分なされていることが確認された。今回調査した食品 5 品目からボツリヌス菌の汚染は認められなかったが、食品 A、C および E の細菌汚染は顕著であった。食品 A は、非加熱および加熱試料から好気性内生孢子形成細菌である *Bacillus* 属、*Virgibacillus* 属および *Paenibacillus* 属の 3 属が検出され、さらに非加熱試料から *Pseudomonas* 属、*Staphylococcus* 属、*Kocuria* 属、*Microbacterium* 属および *Brevibacillus* 属の細菌が検出された。検出された細菌は、いずれも環境に広く分布する細菌であり、多岐にわたる製造過程での汚染があると考えられた。食品 C は、殺菌方法として「真空高熱殺菌」との表示があったが、各ロッ

ト5検体中1検体から *B. subtilis* および *B. firmus* の2菌種あるいは *B. subtilis* のみが検出された。食品AおよびCは、加熱調理後の製品に細菌が残存していることから、細菌制御の検討あるいは要冷蔵表示が必要と考えられた。一方、食品Eは、水分活性が0.82以下であったが、すべての検体から菌が検出され、加熱条件などの検討が必要であると考えられた。

現行法ではすべての気密性容器包装詰食品で殺菌条件を記載する義務はない。しかし、pHが4.6を超え、かつ、*Aw*が0.94を超える食品衛生法で規格基準のない気密性容器包装詰食品については、食品衛生上の安全性を担保するための殺菌条件および保存温度条件などについて十分な検討が必要と考えられる。

要 約

気密性容器包装詰食品の微生物的安全性を評価するため、福岡県内で販売されている49品目の気密性容器包装詰食品についてpHおよび*Aw*を調査した。18品目はpHが4.6を超え、かつ、*Aw*が0.94を超える食品で、18品目中5品目は殺菌方法について全く記載がなく、ボツリヌス菌食中毒予防の観点から殺菌方法の明示が望まれた。さらに49品目の中から福岡県内で製造されている気密性容器包装詰食品5品目(A, B, C, DおよびE)についてそれぞれ3ロット購入し、1ロット5検体についてpH, *Aw*, 一般細菌, 好気性芽胞形成菌, クロストリジアおよびボツリヌス毒素を測定した。標準寒天培地に発育した細菌は、16S rDNA塩基配列に基づく相同性検索を行った。5品目中4品目(A, B, CおよびD)はpHが4.6を超え、かつ、*Aw*が0.94を超える食品であった。食品Aは、すべての検体から一般細菌が検出され、8検体からクロストリジアが検出された。食品Aは、好気性内生孢子形成細菌4属(*Bacillus* 属, *Paenibacillus* 属, *Virgibacillus* 属, *Brevibacillus* 属)および *Pseudomonas* 属, *Staphylococcus* 属, *Microbacterium* 属, *Kocuria* 属および *Methylobacterium* 属の計9属であった。食品Cは、3ロットそれぞれ5検体中1検体からは *Bacillus* 属 (*B. subtilis* と *B. firmus*, または *B. subtilis*) が検出された。食品Eは15サンプルすべて*Aw*が0.82以下であったが、いずれの検体からも *Bacillus* 属 (*B. subtilis*, *B. simplex* および *Bacillus* spp.) と相同性のある細菌が検出された。

本調査では容器包装詰加圧加熱殺菌食品Dと要冷蔵食品Bは、細菌制御が十分であることがわかった。しか

し、殺菌方法の表示のないAおよびE、真空高熱殺菌された食品Cから細菌が検出された。食中毒予防の観点からこれらの食品の包装詰前後の加圧・加熱条件を明確にし、その条件によっては、流通過程での保存方法や賞味期限の設定などに関する指導が必要と考えられた。

謝 辞

本研究の実験を補助していただきました佐伯かおり獣医師に感謝いたします。また、研究にご協力いただきました福岡県保健福祉部生活衛生課ならびに保健福祉環境事務所衛生課の皆様へ深謝いたします。

なお、本研究は平成15年度厚生労働科学研究費補助金(食品安全確保研究事業)により実施した。

文 献

- 1) 厚生省生活衛生局：食品、添加物等の規格基準，昭和34年12月28日，厚生省告示370号(1959)。
- 2) 国立感染症研究所 細菌・血液製剤部 編集・発行，ボツリヌス症の手引き・資料集(2001)。
- 3) 内藤茂三：食品有用・腐敗細菌の性質と検査法 6. *Bacillus* 属，防菌防黴，32, 135-151 (2004)。
- 4) 松田典彦，松本直起，掛川洋子：市販低酸性食品かん詰の商業的無菌性，食衛誌，18, 59-61 (1977)。
- 5) 駒木 勝，大久保良子，松田典彦：市販果実類缶詰の生菌数，缶詰時報，76, 70-76 (1997)。
- 6) Bell, C. and Kyriakides, A.: Factors affecting growth and survival of *Clostridium botulinum*, Bell, C. and Kyriakides, A. (eds.), p. 63-85, London (2000)。
- 7) 伊藤 武，坂井千三：ボツリヌス食中毒の予防，微生物，2, 31-42 (1985)。
- 8) 阪口玄二：15 ボツリヌス菌，細菌・真菌検査，厚生省監修，p. D178-D189，(財)日本公衆衛生協会，東京(1987)。
- 9) Muyzer, G., Teske, A., Wiersen, C. O. and Jannasch, H. W.: Phylogenetic relationships of *Thiomicrospira* species and their identification in deep-sea hydrothermal vent samples by denaturing gradient gel electrophoresis of 16S rDNA fragments. Arch. Microbiol., 164, 165-172 (1995)。
- 10) 厚生省衛生局食品保健課長：気密性のある容器包装詰め要冷蔵食品に係る取扱いについて，平成11年8月30日，衛食第120号(1999)。
- 11) 厚生労働省医薬局食品保健部基準課長，監視安全課長：容器包装詰食品に関するボツリヌス食中毒対策について，平成15年6月30日，食基発第0630002号/食監発第0630004号(2003)。