

厚生労働科学研究費補助金（食品・化学物質安全総合研究事業）  
分担研究報告書

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

－「ほたての塩焼」, 「きんぴら大根」, 「筑前煮」－

分担研究者 堀川 和美 福岡県保健環境研究所

研究協力者 村上 光一, 長野 英俊, 濱崎 光宏, 高田 智 (福岡県保健環境研究所)

**研究要旨** 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、「ほたての塩焼」, 「きんぴら大根」および「筑前煮」の3品目についてボツリヌス菌芽胞を添加し保存性試験を行った。その結果, ボツリヌス菌芽胞添加後, 「きんぴら大根」および「筑前煮」は3日から10日以内に容器全体が膨化した。「ほたての塩焼」は, 芽胞を添加した5検体中4検体が12日から61日で膨化した。膨化した検体のクロストリジア菌数は $10^7$  cfu/g前後で, pHが約0.2程度上昇していた。一方, ボツリヌス菌芽胞を添加していないものは, 90日間の保存性試験の結果, 一般細菌並びにクロストリジア属は検出されず, pHIの変化も見られなかった。

A. 研究目的

食品衛生法では, 缶, ビン, レトルトパウチ, プラスチック容器などに密封して加圧加熱した食品を, 「容器包装詰加圧加熱食品」(食品中清涼飲料水, 食肉製品, 魚肉練り製品は除く) という分類でひとまとめにして扱っている。食品衛生法で定められている「容器包装詰加圧加熱食品」の殺菌方法は, ①食品中に存在し, かつ発育する可能性のある微生物を死滅させること。②pHが4.6を超え, かつ水分活性( $A_w$ )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, 食品中心部まで $120^{\circ}\text{C}$ , 4分加熱または同等以上の殺菌をすること。と規定されている。しかし, 近年多用な食品が製造・販売され, どの製品が「容器包装詰加圧加熱食品」に該当するかは, ほとんど分からないのが現状である。特に当該食品のpHや水分活性値の表示はなされておらず, 外観での判断は困難である。

そこで, 平成14年度は, 容器包装詰食品の中でpHが4.6を超える“容器包装詰低酸性食品”で製造法として容器包装内をガス置換後, 加熱処理製造された「不活化ガス充填加圧加熱殺菌食品」を対象に, ボツリヌス食中毒に対するリスク評価を行った。本研究では, 「ほたての塩焼」, 「きんぴら大根」および「筑前煮」の3品目について検討した。

B. 研究方法

1. 供試試料

「ほたての塩焼」, 「きんぴら大根」および「筑前煮」の3品目は, 製造者より各々40袋ずつ購入した(表1)。また, 実験に使用した被検材料の検体番号を図1に示した。

2. 試料の $A_w$ , pHおよび熱伝導性測定

$A_w$ および熱伝導性試験は日本缶詰協会研究所で実施した(図2)。pHは, 試験品20袋中3袋は日本缶詰協会研究所, 残り17袋は

当所で実施した。当所で使用した pH 測定器は、東亜ディーケーケー株式会社製の HM-30G で、電極は同社製 GST-5721C を用いた。電極は、菌添加品計測後は直ちにオートクレープで滅菌 (121℃, 60 分) 後、廃棄した。

### 3. ボツリヌス菌芽胞添加実験

被検食品にボツリヌス菌芽胞を添加する過程は、日本缶詰協会研究所で実施した。当所対象品の接種用芽胞混合液の初発芽胞数は、 $9.8 \times 10^5$  cfu/20  $\mu$ l であった (表 2)。

### 4. 保存試験

各試験品検体番号 18-20 は、無処理のまま保存し試験品の無菌性を確認した。検体番号 12-14 は、開封し芽胞は接種せず熱処理を行い開封操作の無菌性を確認した。検体番号 1-5 は、開封後芽胞を接種し、熱処理を行い検体の膨化の有無について観察した。

いずれも保存性試験は、各検体別にポリシール袋で密封シールし、30℃のインキュベータ (三洋電機, MIR553) で培養し、毎日観察した (図 3)。容器が膨張した時点で、直ちに 4℃の冷蔵庫に保存し、検査に供した。

### 5. 菌数測定

#### 5-1 試料原液の調整

各試験品は全量が無菌的にストマッカー用袋 (栄研器材製, ストマフィルター S) にとり、等重量の滅菌蒸留水をストマッカーで 1 分間混和した。この 2 倍希釈液を試料原液とした。試料原液は一般細菌数、クロストリジア属菌数、pH 測定および毒素試験に使用した。毒素試験用試料原液は、直ちに検査が出来ない場合は -20℃の冷凍庫で保存した。

#### 5-2 一般細菌数測定

当研究班で決められた器材・器具、培地並びに方法に準拠し、実施した。

#### 5-3 クロストリジア属菌数

クロストリジア属菌数測定には 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、50℃に保温したクロストリジア寒天培地 10 ml を加え、混和・固化後 35±1℃で 24±2 時間培養した。

### 6. 毒素の定性試験と毒素型の決定

#### 6-1 毒素試験用試料の作製

各試料原液 (2 倍) 約 7ml を 15ml 滅菌プラスチック遠心管に分注し、これを 3,000 rpm, 20 分間遠心した。遠心上清を 0.45 $\mu$ m のミリポアフィルターで濾過した。濾過した試験液は、滅菌小試験管に 1.5ml ずつ 2 本に分注し、1 本はそのまま (非加熱)、もう一方は 100℃で 30 分加熱処理 (加熱処理) した。また、陰性コントロール試験には、滅菌蒸留水を用い同様の操作を行った。

#### 6-2 毒素の定性試験

毒素試験は、いずれも d d Y 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 0.5ml 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。

#### 6-3 毒素型別試験

毒素定性試験におけるマウス斃死時間からおおよその毒素量を推定し、ゼラチン緩衝液で試料原液を希釈した。ボツリヌス毒素 A あるいは B 単独中和液は、試料液 1 ml に対し 4 IU/ml の A あるいは B 抗毒素液を各々 1 ml 加えた。A および B 中和液は、試料液 1 ml に対し 8 IU/ml の A および B 抗毒素液を各々 0.5 ml 加えた。各中和液 0.5ml を 2 匹のマウスにそれぞれ腹腔内注射し、接種後 4 日間観察した。

### C. 研究結果

#### 1. 試料の Aw, pH および熱伝導性

各試験品の Aw および pH を表 3 に示した。いずれの試験品も Aw が 0.94 以上で pH は 4.6 を超えていた。熱伝導性測定結果を図 4-6

および表 4 に示した。試験品の中心部が 80℃ に達する時間 (カムアップタイム) は, R (ほたての塩焼) が約 29 分, S (きんぴら大根) が約 8 分弱, T (筑前煮) は約 30 分であった。カムアップタイムに基づきシール後の加熱時間を算定した (表 4)。

## 2. 実験開始時の試験品検査結果

### 2-1 実験区分 A (15-17) : 無処理

試験品が製造過程で適切に加熱処理が行われているかを確認するため実験開始時の細菌およびボツリヌス毒素の検査を行った。試験品 3 種ともに一般細菌数およびクロストリジア属菌数は 10 cfu/g 未満であった。またボツリヌス毒素も検出されなかった (表 5-7)。

### 2-2 実験区分 C (9-11) : 開封芽胞非接種

開封操作が無菌的に行われたことを確認するために行った。試験品 3 種ともに一般細菌数およびクロストリジア属菌数は 10 cfu/g 未満であった。またボツリヌス毒素も検出されなかった (表 5-7)。

### 2-3 実験区分 E (6-8) : 接種菌数確認

芽胞接種・熱処理直後の芽胞数を確認するために行った。芽胞添加菌数は  $9.8 \times 10^5$  cfu/20 $\mu$ l であり, 計算値では R および S はグラムあたり  $1.8 \times 10^4$  cfu, T はグラムあたり  $0.81 \times 10^4$  cfu であった。実測値の平均値は R が  $5.8 \times 10^4$  cfu/g, S が  $3.1 \times 10^4$  cfu/g, T が  $1.2 \times 10^4$  cfu/g であった。一般細菌数はいずれも 10 cfu/g 未満であった (表 5-7)。

## 3. 保存性試験

### 3-1 実験区分 B (18-20) : 未開封

試験品が保存 (30℃, 90 日間) 過程で細菌が増殖していないことを確認するため, 袋の膨張の有無, 細菌およびボツリヌス毒素の検査を行った。試験品 3 種ともに観察期間 90 日後まで, 袋の膨張はみられなか

った。また, 一般細菌数およびクロストリジア属菌数は 10 cfu/g 未満であった。ボツリヌス毒素も検出されなかった (表 5-7)。

### 3-2 実験区分 D (12-14) : 開封芽胞非接種

開封操作が無菌的に行われ保存 (30℃, 90 日間) 過程で細菌が増殖していないことを確認するため, 袋の膨張の有無, 細菌およびボツリヌス毒素の検査を行った。試験品 3 種ともに観察期間 90 日後まで, 袋の膨張はみられなかった。また, 一般細菌数およびクロストリジア属菌数は 10 cfu/g 未満であった。ボツリヌス毒素も検出されなかった (表 5-7)。

## 4. 芽胞添加実験結果 : 実験区分 F (1-5)

### 4-1 R (ほたての塩焼, 表 5)

#### 4-1-1 保存性試験

試験品の膨化は, 保存試験開始 12, 14 および 61 日 (2 袋) 後に発生した。残り 1 袋は 90 日間では膨化しなかった。

#### 4-1-2 細菌検査

一般細菌数は試験品 5 検体共に 10 cfu/g 未満であった。クロストリジア菌数は, 膨化の見られなかった no.3 は 10 cfu/g 未満で, 他 4 検体は  $4.6 \times 10^7$  -  $1.4 \times 10^8$  cfu/g であった (図 6)。

#### 4-1-3 ボツリヌス毒素試験

膨化の見られなかった no.3 の 2 倍希釈試験液をマウス腹腔内接種を行い, 4 日間観察を行ったが, 加熱処理および未処理群ともに生残した (表 8)。他 4 検体は未処理群がいずれも斃死し, 加熱処理群は生残した。4 検体のボツリヌス毒素型別を行った結果, B 単独が 1 検体, A および B が 3 検体であった (表 9)。

### 4-2 S (きんぴら大根, 表 6)

#### 4-2-1 保存性試験

試験品は, 保存試験開始 3 日で 4 検体が,

4 日で 1 検体が膨化した。

#### 4-2-2 細菌検査

一般細菌数は試験品 5 検体共に 10 cfu/g 未満であった。クロストリジア菌数は、 $1.6 \times 10^7 - 6.0 \times 10^7$  cfu/g であった。

#### 4-2-3 ボツリヌス毒素試験

検体は未処理群がいずれも斃死し、加熱処理群は生残した (表 8)。非加熱 2 倍希釈液のマウス腹腔内接種群の斃死時間は、52 分から 1 時間 29 分であった。検体内での毒素産生量は多ことが予想された。また 1 回目のボツリヌス毒素型別試験では、2 倍希釈液は 1 単位の抗毒素では中和できなかった。そこで検体 no.1 をさらに 10 倍、50 倍、100 倍および 500 倍に希釈し、マウス腹腔内に接種した (図 8)。その結果個体差はあるものの 50 倍から 100 倍程度で、接種後斃死時間が 4 時間前後であることが分かった。そこで 5 検体を 80 倍に希釈し、ボツリヌス毒素型別試験を行った。その結果、A 単独が 4 検体、A および B が 1 検体であった (表 9)

#### 4-3 T (筑前煮、表 7)

##### 4-3-1 保存性試験

試験品は、保存試験開始 5 日で 2 検体が、9 日で 1 検体が、10 日で 2 検体が発膨化した。

##### 4-3-2 細菌検査

一般細菌数は試験品 5 検体共に 10 cfu/g 未満であった。クロストリジア菌数は、 $0.7 \times 10^7 - 4.2 \times 10^7$  cfu/g であった。

##### 4-2-3 ボツリヌス毒素試験

検体は未処理群がいずれも斃死し、加熱処理群は 4 日後も生存した (表 8)。2 倍試験液では非加熱群では接種後 1 時間 23 分から約 3 時間で斃死、検体中の毒素産生量が多と予想された。また 1 回目のボツリヌス毒素型別試験では、2 倍希釈液は 1 単位の抗毒素では中和できなかった。そこで検体 S

の no.1 の希釈試験の結果 (図 8) から、10 倍希釈程度で、接種後斃死時間が 4 時間前後であることを類推した。そこで 5 検体を 10 倍に希釈し、ボツリヌス毒素型別試験を行った。その結果、5 検体いずれも A および B であった (表 9)

#### D. 考察

食品衛生法で規定されている「容器包装詰加圧加熱食品」は、水分活性値が 0.94 以上でかつ pH が 4.6 を超える化学的性状を有する食品群が容器包装に詰められて市場で常温・長期流通される食品をさしている。食品衛生法では有芽胞細菌特にボツリヌス菌による食中毒を防止するために、これらの食品群を常温流通させるためには容器包装後 120℃、4 分以上の加熱を義務づけている。現在流通市場では「容器包装詰加圧加熱食品」と見た日には区別できない“容器包装詰低酸性食品”が販売されているが、その安全性は法的に担保されていない。乳業業界等では以前から殺菌時間と温度について検討がなされ、食味を損なわない殺菌温度が確立している。しかも、流通温度についても厳重な規定がなされている。一方、複合調理食品は微生物コントロール面だけでも容易ではない。しかし、食品業界での方向性は常温・長期保存性食品の生産に向いている。特に近年では“容器包装詰食品”の糖尿病、高血圧などの治療目的や離乳食、病院食などの易感染性の人に対する食材の提供が広範に行われつつある。これらの食品は、「そうざい」、「野菜類加工品」、「穀類加工品」等多種多岐にわたっている。

本研究ではこれらの食品が細菌学的に「常温・長期流通」することの安全性、特にボツリヌス食中毒のリスクについて評価することにある。今回当所で試験品 3 品目を担当した。これら 3 種食品は食品衛生法で規定されて

いる「容器包装詰加圧加熱食品」の化学的性状と同等の水分活性値が 0.94 以上でかつ pH が 4.6 を超える性状を有していた。3 種の食品は、いずれも 90 日の保存性試験では一般細菌、クロストリジア属菌は検出されず、ボツリヌス毒素も検出されなかった。完全な保存性試験に供した検体数がいずれも 3 検体ではあるが、これらの食品については現行の加熱方法で比較的安全であることが分かった。一方、不慮の事故あるいは殺菌不良を想定した添加実験ではいずれの食品も開封状態でボツリヌス菌が生育し、ボツリヌス毒素を産生することが確認された。このことは殺菌が十分でなければボツリヌスによる食中毒の危険性があることを示唆している。今回検討した「不活化ガス充填加圧加熱殺菌食品」のような「容器包装詰加圧加熱食品」類似食品は、殺菌条件は表示されておらず不明な点が多い。食品衛生上安全性を確保するためには殺菌条件を何らかの形で行政的に確認し、保存性試験の実施とその結果書の提示を義務づける必要があると考えられる。しかし、「容器包装詰加圧加熱食品」類似食品の範疇をどこまでとするかなどルールづくりを行うためには本研究による調査と抜き取り調査が必要と考えられる。実施とその結果書の提示を義務づける必要があると考えられる。

#### E. 結論

##### 1. 3 種食品の保存性試験 (90 日間) について

いずれも 30℃、90 日間の保存試験では一般細菌、クロストリジア属菌およびボツリヌス毒素は検出されなかった。

##### 2. 3 種食品の芽胞添加実験について

①3 種食品は、A 型毒素産生および B 型産生ボツリヌス菌のいずれも生育可能

であり、ボツリヌス毒素を産生することが分かった。

②殺菌が十分でない場合いずれもボツリヌス食中毒の発生の危険性があることが分かった。

表 1. 供試試料

食品 記号	製 品	容 器	総重量. g
R	ほたての塩焼(55g)	アルミパウチ袋(平袋)	62.7-63.5
S	きんぴら大根(55g)	透明パウチ(平袋)	76.3-80.5
T	筑前煮(120g)	透明パウチ(平袋)	135.6-146.7

表 2 接種用芽胞液の初発芽胞数  
(対象品目 R,S,T)

測定値, cfu/20 $\mu$ l	平均, cfu/20 $\mu$ l
$1.0 \times 10^6$	$9.8 \times 10^5$
$1.1 \times 10^6$	
$8.5 \times 10^5$	

表 3 供試試料の水分活性(A<sub>w</sub>)および pH

食品 記号	検体 no.	A <sub>w</sub>	pH	
			測定方法	測定値
R	21	0.98	50%DW 加	6.8
	22	0.98	"	6.9
	23	0.97	"	6.9
S	21	0.99	直接	5.7
	22	0.99	"	5.8
	23	0.99	"	5.7
T	21	0.98	直接	5.5
	22	0.99	"	5.4
	23	0.99	"	5.5

表 4 熱伝達測定結果および加熱処理時間

食品 記号	カムアップタイム*, 分		加熱処理時間**, 分
	no.24	no.25	
R	27.5	30.5	49
S	8.0	8.5	28
T	19.5	40.5	50

\*, 80°Cに達するまでの時間(測定値)

\*\*, 熱伝達測定結果より決定した時間

表5 食品R(ほたての塩焼)の検査結果概要

検体処理内訳					理化学・細菌試験結果						
区分	処理内容	袋数	No.	試験項目	培養日数	袋の膨張	pH	Aw	SPC(cfu/g)	Clt(cfu/g)	毒素型
	無処理	3	21 22 23	理化学試験	0日	NT	6.8 6.9 6.9	0.98以上 0.98以上 0.97	NT	NT	NT
A	無処理	3	15 16 17	細菌試験 (陰性確認)	0日	NT	NT	NT	10未満 10未満 10未満	10未満 10未満 10未満	陰性 陰性 陰性
B	無処理	3	18 19 20	保存試験 (未開封)	90日	無し 無し 無し	6.7 6.7 6.8	NT	10未満 10未満 10未満	10未満 10未満 10未満	陰性 陰性 陰性
C	開封芽胞非接種	3	9 10 11	細菌試験 (開封操作確認)	0日	NT	6.9 6.9 6.9	NT	10未満 10未満 10未満	10未満 10未満 10未満	NT
D	開封芽胞非接種	3	12 13 14	保存試験 (開封)	90日	無し 無し 無し	6.9 7.0 6.9	NT	10未満 10未満 10未満	10未満 10未満 10未満	陰性 陰性 陰性
E	開封芽胞接種	3	6 7 8	細菌試験 (接種菌数確認)	0日	NT	6.8 6.9 6.9	NT	10未満 10未満 10未満	8.3 x10 <sup>4</sup> 4.9 x10 <sup>4</sup> 4.3 x10 <sup>4</sup>	NT
F	開封芽胞接種	5	1 2 3 4 5	細菌試験	14日 61日 90日 61日 12日	有り 有り 無し 有り 有り	6.9 7.1 6.7 7.1 6.9	NT	10未満 10未満 10未満 10未満 10未満	6.5 x10 <sup>7</sup> 1.4 x10 <sup>8</sup> 0 6.9 x10 <sup>7</sup> 4.6 x10 <sup>7</sup>	B A+B 陰性 A+B A+B

Clt(クロストリジウム菌数)および、SPC(一般生菌数) : 計測数が10に満たない時は「10未満」と記載

pH : 小数点第一位まで記載

Aw : 小数点第二位まで記載し、0.98以上の場合は「0.98以上」と記載

NT : 検査せず

表6 食品S(きんぴら大根)の検査結果概要

検体処理内訳						理化学・細菌試験結果					
区分	処理内容	袋数	No.	試験項目	培養日数	袋の膨張	pH	Aw	SPC(cfu/g)	Clit(cfu/g)	毒素型
	無処理	3	21	理化学試験	0日	NT	5.7	0.98以上	NT	NT	NT
			22				5.8	0.98以上			
			23				5.7	0.98以上			
A	無処理	3	15	細菌試験 (陰性確認)	0日	NT	NT	NT	10未満	10未満	陰性
			16						10未満	10未満	陰性
			17						10未満	10未満	陰性
B	無処理	3	18	保存試験 (未開封)	90日	無し	5.6	NT	10未満	10未満	陰性
			19			無し	5.5		10未満	10未満	陰性
			20			無し	5.5		10未満	10未満	陰性
C	開封芽胞非接種	3	9	細菌試験 (開封操作確認)	0日	NT	5.8	NT	10未満	10未満	NT
			10				5.8		10未満	10未満	
			11				5.8		10未満	10未満	
D	開封芽胞非接種	3	12	保存試験 (開封)	90日	無し	5.6	NT	10未満	10未満	陰性
			13			無し	5.5		10未満	10未満	陰性
			14			無し	5.5		10未満	10未満	陰性
E	開封芽胞接種	3	6	細菌試験 (接種菌数確認)	0日	NT	5.9	NT	10未満	$3.6 \times 10^4$	NT
			7				5.8		10未満	$2.7 \times 10^4$	
			8				5.8		10未満	$3.0 \times 10^4$	
F	開封芽胞接種	5	1	細菌試験	3日	有り	6.0	NT	10未満	$4.0 \times 10^7$	A
			2		3日	有り	5.9		10未満	$5.0 \times 10^7$	A
			3		4日	有り	6.0		10未満	$1.6 \times 10^7$	A
			4		3日	有り	6.0		10未満	$2.4 \times 10^7$	A+B
			5		3日	有り	6.0		10未満	$6.0 \times 10^7$	A

Clit(クロストリジア菌数)および、SPC(一般生菌数) : 計測数が10に満たない時は「10未満」と記載

pH : 小数点第一位まで記載

Aw : 小数点第二位まで記載し、0.98以上の場合は「0.98以上」と記載

NT : 検査せず



表7 食品T(筑前煮)の検査結果概要

検体処理内訳						理化学・細菌試験結果					
区分	処理内容	袋数	No.	試験項目	培養日数	袋の膨張	pH	Aw	SPC(cfu/g)	Clf(cfu/g)	毒素型
	無処理	3	21	理化学試験	0日	NT	5.5	0.98以上	NT	NT	NT
			22				5.4	0.98以上			
			23				5.5	0.98以上			
A	無処理	3	15	細菌試験 (陰性確認)	0日	NT	NT	NT	10未満	10未満	陰性
			16						10未満	10未満	陰性
			17						10未満	10未満	陰性
B	無処理	3	18	保存試験 (未開封)	90日	無し	5.5	NT	10未満	10未満	陰性
			19			無し	5.4		10未満	10未満	陰性
			20			無し	5.5		10未満	10未満	陰性
C	開封芽胞非接種	3	9	細菌試験 (開封操作確認)	0日	NT	5.7	NT	10未満	10未満	NT
			10				5.6		10未満	10未満	
			11				5.5		10未満	10未満	
D	開封芽胞非接種	3	12	保存試験 (開封)	90日	無し	5.4	NT	10未満	10未満	陰性
			13			無し	5.4		10未満	10未満	陰性
			14			無し	5.5		10未満	10未満	陰性
E	開封芽胞接種	3	6	細菌試験 (接種菌数確認)	0日	NT	5.7	NT	10未満	$1.4 \times 10^4$	NT
			7				5.6		10未満	$1.2 \times 10^4$	
			8				5.5		10未満	$1.1 \times 10^4$	
F	開封芽胞接種	5	1	細菌試験	5日	有り	5.8	NT	10未満	$4.2 \times 10^7$	A+B
			2		5日	有り	5.8		10未満	$4.0 \times 10^7$	A+B
			3		10日	有り	5.7		10未満	$0.8 \times 10^7$	A+B
			4		9日	有り	5.9		10未満	$0.7 \times 10^7$	A+B
			5		10日	有り	5.8		10未満	$3.8 \times 10^7$	A+B

Clf(クロストリジウム菌数)および、SPC(一般生菌数) : 計測数が10に満たない時は「10未満」と記載

pH : 小数点第一位まで記載

Aw : 小数点第二位まで記載し、0.98以上の場合は「0.98以上」と記載

NT : 検査せず

表8 試料原液希釈液接種マウスの斃死時間

食品記号 と マウス番号	1回目				2回目	
	未処理		100°C30分加熱		未処理	
	希 釈	斃死時間	希 釈	斃死時間	希 釈	斃死時間
R-1-1	×4	約12時間	×4	生残	×2	7時間35分
R-1-2		3時間5分		生残		3時間35分
R-2-1	×4	5時間25分	×4	生残		
R-2-2		5時間55分		生残		
R-2-3		4時間4分		生残		
R-3-1	×2	生残	×2	生残		
R-3-2		生残		生残		
R-4-1	×4	5時間23分	×4	生残		
R-4-2		5時間22分		生残		
R-4-3		4時間2分		生残		
R-5-1	×4	2時間45分	×4	生残	×2	3時間49分
R-5-2		3時間20分		生残		2時間28分
S-1-1	×2	52分	×2	生残		
S-1-2		1時間		生残		
S-2-1	×2	52分	×2	生残		
S-2-2		1時間10分		生残		
S-3-1	×2	1時間6分	×2	生残		
S-3-2		1時間7分		生残		
S-4-1	×2	1時間29分	×2	生残		
S-4-2		1時間11分		生残		
S-5-1	×2	1時間6分	×2	生残		
S-5-2		1時間12分		生残		
T-1-1	×2	2時間15分	×2	生残		
T-1-2		2時間15分		生残		
T-2-1	×2	2時間45分	×2	生残		
T-2-2		1時間23分		生残		
T-3-1	×2	2時間48分	×2	生残		
T-3-2		2時間30分		生残		
T-4-1	×2	1時間39分	×2	生残		
T-4-2		1時間33分		生残		
T-5-1	×2	2時間2分	×2	生残		
T-5-2		1時間51分		生残		

表9 ポツリヌス菌添加食品希釈液の抗血清による中和液投与マウスの斃死時間

食品記号 と マウス番号	中和試験1回目			中和試験2回目				
	抗毒素			抗毒素				
	A	B	A+B	A	B	A+B		
希釈 倍率	斃死時間	斃死時間	斃死時間	希 釈	斃死時間	斃死時間	斃死時間	
R-1-1	×2	2時間36分	生残	生残				
R-1-2		2時間33分	生残	生残				
R-2-1	×4	約1日	6時間	生残				
R-2-2		約4日	4時間15分	生残				
R-4-1	×4	8時間42分	8時間42分	生残				
R-4-2		8時間42分	4時間50分	生残				
R-5-1	×2	2時間26分	約1日	生残				
R-5-2		約1日	約1日	生残				
S-1-1	×2	2時間23分	1時間56分	1時間36分	×80	生残	生残	生残
S-1-2		2時間42分	1時間25分	2時間7分		生残	3時間25分	生残
S-2-1	×2	1時間49分	1時間26分	2時間19分	×80	生残	3時間48分	生残
S-2-2		2時間42分	1時間52分	2時間		生残	3時間23分	生残
S-3-1	×2	2時間45分	3時間19分	1時間50分	×80	生残	4時間	生残
S-3-2		約12時間	約12時間	2時間15分		生残	約17時間	生残
S-4-1	×2	2時間48分	約12時間	1時間53分	×80	生残	6時間5分	生残
S-4-2		2時間43分	1時間23分	1時間53分		約2日	3時間30分	生残
S-5-1	×2	2時間11分	1時間5分	3時間31分	×80	生残	3時間30分	生残
S-5-2		3時間46分	1時間30分	1時間58分		生残	2時間33分	生残
T-1-1	×2	2時間52分	約12時間	約12時間	×10	4時間15分	4時間25分	生残
T-1-2		約12時間	1時間47分	約12時間		7時間	2時間5分	生残
T-2-1	×2	生残	2時間23分	1時間27分	×10	7時間5分	2時間10分	生残
T-2-2		生残	1時間22分	2時間12分		約3日	2時間15分	生残
T-3-1	×2	1時間59分	3時間38分	約12時間	×10	1時間45分	生残	生残
T-3-2		3時間13分	約12時間	約12時間		2時間13分	5時間35分	生残
T-4-1	×2	生残	3時間10分	生残	×10	1時間45分	7時間35分	生残
T-4-2		1時間35分	約12時間	3時間11分		1時間40分	4時間50分	生残
T-5-1	×2	3時間11分	2時間38分	約1日	×10	2時間40分	2時間25分	生残
T-5-2		2時間33分	3時間8分	生残		3時間30分	2時間15分	生残