

図1 馬刺くん 図2 帆立時雨煮

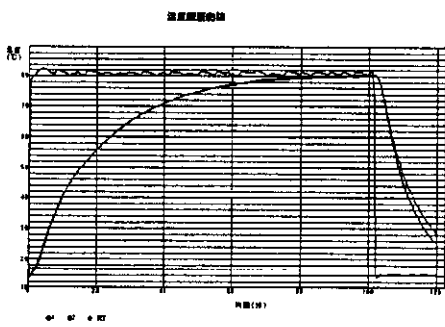


図3 飛魚のやき

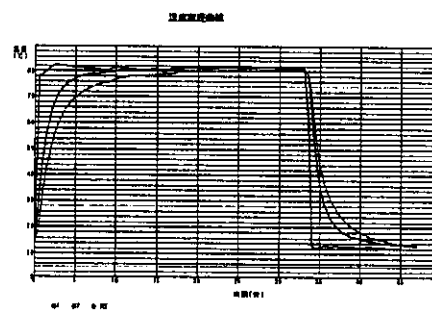


図4 い子煮

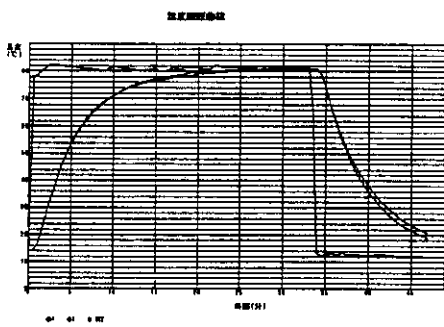


図5 酢豚

図1～5：各食品における熱伝導曲線

表 1 : 供試検体の内訳

品目記号	製品名	容器	総重量 (g)
C	馬刺くん製 (50g)	透明パウチ (平袋)	60~63
W	帆立時雨煮 (2ヶ 60g)	透明パウチ (平袋)	57~72
a	飛魚のやき (150g)	透明パウチ (平袋)	141~173
b	いそ煮	透明パウチ (平袋)	47~51
C	酢豚	透明パウチ (平袋)	148~153

表 2 : 供試菌株の血清型及び由来

菌株番号	血清型	由来
5101	A(62A)	ATCC 7948
5102	A(90A9)	東海区水産研究所
5105	A(B1G4)	東海区水産研究所
5108	A(62A)	National Food Processors Association, U.S.A.
5106	B(213B)	東海区水産研究所

表3：容器包装詰低酸性食品のボツリヌス菌芽胞添加試験結果

検体名：[C]馬刺くん製

担当：北海道衛研

試験開始日：2002年12月5日

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	備考(毒素価等)
	無処理	3	21	理化学試験	0日	/	6.1	0.97	/	/	/	
			22				6.1	0.97				
			23				6.0	0.96				
A	無処理	3	15	細菌試験 (陰性確認)	0日	無			10未満	30	A,B	<i>C.botulinum</i> type A (3), type B (1)
			16				10未満	10未満				
			17				10未満	10未満				
B	無処理	3	18	保存試験 (未開封)	90日	無	6.1		10未満	10未満		
			19				6.1	10未満	10未満			
			20				6.1	10未満	10未満			
C	開封芽胞非接種	3	9	細菌試験 (開封操作確認)	0日	無			10未満	10未満		
			10				10未満	10未満				
			11				10未満	10未満				
D	開封芽胞非接種	3	12	保存試験 (開封)	28日	有	6.2		2.7×10^6	6.1×10^5	B	<i>B.subtilis</i> , <i>C.botulinum</i> type B
			13		90日	無	6.1		10未満	10未満		
			14		90日	無	6.1		10未満	10未満		
E	開封芽胞接種	3	6	細菌試験 (接種菌数確認)	0日	無	6.1		10未満	3.9×10^4		
			7				6.1	10未満	4.2×10^4			
			8				6.1	10未満	4.1×10^4			
F	開封芽胞接種	5	1	細菌試験	28日	有	6.2		10未満	5.2×10^6	A,B	4×10^3 MLD/g
			2		28日	有	6.2		1.4×10^4	6.2×10^6	A,B	4×10^3 MLD/g, <i>B.subtilis</i>
			3		28日	有	6.1		10未満	4.8×10^6	A,B	2×10^3 MLD/g
			4		28日	有	6.1		10未満	3.1×10^6	A,B	2×10^3 MLD/g
			5		28日	有	6.1		10未満	7.4×10^6	A,B	4×10^3 MLD/g

表4：容器包装詰低酸性食品のボツリヌス菌芽胞添加試験結果

検体名：[W] 帆立時雨煮
 担当：北海道衛研
 試験開始日：2002年12月5日

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)	Cit (cfu/g)	毒素型	備考(毒素価等)
	無処理	3	21 22 23	理化学試験	0日	/	6.7 6.7 6.6	0.99 0.99 0.99	/	/	/	
A	無処理	3	15 16 17	細菌試験 (陰性確認)	0日	無			10未満 10未満 10未満	10未満 10未満 10未満		
B	無処理	3	18 19 20	保存試験 (未開封)	90日	無	6.7 6.7 6.7		10未満 10未満 10未満	10未満 10未満 10未満		
C	開封芽胞非接種	3	9 10 11	細菌試験 (開封操作確認)	0日	無			10未満 10未満 10未満	10未満 10未満 10未満		
D	開封芽胞非接種	3	12 13 14	保存試験 (開封)	5日 90日 90日	有 無 無	6.6 6.7 6.8		10未満 10未満 10未満	1.3 x 10 ⁸ 10未満 10未満	B	1 x 10 ² MLD/g, <i>C.botulinum</i> type B
E	開封芽胞接種	3	6 7 8	細菌試験 (接種菌数確認)	0日	無	6.5 6.6 6.7		10未満 10未満 10未満	3.8 x 10 ⁴ 3.9 x 10 ⁴ 3.0 x 10 ⁴		
F	開封芽胞接種	5	1 2 3 4 5	細菌試験	4日 4日 5日 5日 4日	有 有 有 有 有	6.8 6.9 6.7 6.9 6.9		10未満 10未満 10未満 10未満 10未満	3.2 x 10 ⁷ 4.8 x 10 ⁷ 6.0 x 10 ⁷ 5.5 x 10 ⁷ 5.4 x 10 ⁷	A A A A A	2 x 10 ³ MLD/g 2 x 10 ³ MLD/g 2 x 10 ³ MLD/g 1 x 10 ³ MLD/g 2 x 10 ³ MLD/g

表5：容器包装詰低酸性食品のボツリヌス菌芽胞添加試験結果

検体名：[a] 飛魚のやき
 担当：北海道衛研
 試験開始日：2003年1月30日

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	備考 (毒素価等)
	無処理	3	21 22 23	理化学試験	0日	/	6.7 6.7 6.7	0.98 0.97 0.98	/	/	/	
A	無処理	3	15 16 17	細菌試験 (陰性確認)	0日	無			10未満 10未満 10未満	10未満 10未満 10未満		
B	無処理	3	18 19 20	保存試験 (未開封)	90日							
C	開封芽胞非接種	3	9 10 11	細菌試験 (開封操作確認)	0日	無	6.8 6.7 6.8		10未満 10未満 10未満	10未満 10未満 10未満		
D	開封芽胞非接種	3	12 13 14	保存試験 (開封)	90日				10未満 10未満 10未満	10未満 10未満 10未満		
E	開封芽胞接種	3	6 7 8	細菌試験 (接種菌数確認)	0日	無	6.7 6.7 6.7		10未満 10未満 10未満	3.1×10^4 3.5×10^4 2.5×10^3		
F	開封芽胞接種	5	1 2 3 4 5	細菌試験	90日 90日 90日 90日 90日	無 無 破損 無 無	6.7 6.7 6.7 6.7 6.7		10未満 10未満 10未満 10未満 10未満	2.4×10^4 10未満 3.1×10^5 10未満 10未満	A,B	1.0×10^3 MLD/g

表6：容器包装詰低酸性食品のボツリヌス菌芽胞添加試験結果

検体名：[b]いそ煮

担当：北海道衛研

試験開始日：2003年1月30日

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	備考 (毒素価等)
	無処理	3	21 22 23	理化学試験	0日	/	4.9 4.9 4.9	0.98 0.98 0.98	/	/	/	
A	無処理	3	15 16 17	細菌試験 (陰性確認)	0日	無			10未満 10未満 10未満	10未満 10未満 10未満		
B	無処理	3	18 19 20	保存試験 (未開封)	90日				10未満 10未満 10未満	10未満 10未満 10未満		
C	開封芽胞非接種	3	9 10 11	細菌試験 (開封操作確認)	0日	無	4.9 4.9 4.9		10未満 10未満 10未満	10未満 10未満 10未満		
D	開封芽胞非接種	3	12 13 14	保存試験 (開封)	90日				10未満 10未満 10未満	10未満 10未満 10未満		
E	開封芽胞接種	3	6 7 8	細菌試験 (接種菌数確認)	0日	無	4.9 4.9 4.9		10未満 10未満 10未満	3.1×10^4 3.5×10^4 2.5×10^4		
F	開封芽胞接種	5	1 2 3 4 5	細菌試験	90日 90日 90日 90日 90日	無	4.9 4.9 4.9 4.9 4.9		10未満 10未満 10未満 10未満 10未満	1.6×10^4 1.9×10^4 5.1×10^3 6.4×10^3 3.2×10^3		

表7：容器包装詰低酸性食品のボツリヌス菌芽胞添加試験結果

検体名：[c] 酢豚

担当：北海道衛研

試験開始日：2003年1月30日

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)	Cit (cfu/g)	毒素型	備考 (毒素価等)
	無処理	3	21 22 23	理化学試験	0日	/	4.8 4.7 4.8	0.98 0.98 0.98	/	/	/	
A	無処理	3	15 16 17	細菌試験 (陰性確認)	0日	無			10未満 10未満 10未満	10未満 10未満 10未満		
B	無処理	3	18 19 20	保存試験* (未開封)	90日							*50日現在外観異常なし
C	開封芽胞非接種	3	9 10 11	細菌試験 (開封操作確認)	0日	無	4.9 4.8 4.8		10未満 10未満 10未満	10未満 10未満 10未満		
D	開封芽胞非接種	3	12 13 14	保存試験* (開封)	90日							*50日現在外観異常なし
E	開封芽胞接種	3	6 7 8	細菌試験 (接種菌数確認)	0日	無	4.8 4.8 4.8		10未満 10未満 10未満	4.5 x 10 ³ 3.7 x 10 ³ 4.8 x 10 ³		
F	開封芽胞接種	5	1 2 3 4 5	細菌試験	20日 20日 20日 20日 20日	有 有 有 有 有	4.9 4.9 4.9 4.8 4.9		10未満 10未満 10未満 10未満 10未満	2.9 x 10 ⁷ 3.3 x 10 ⁷ 2.7 x 10 ⁷ 4.9 x 10 ⁷ 4.6 x 10 ⁷	A,B A,B A,B A,B A,B	2 x 10 ⁴ MLD/g 2 x 10 ⁴ MLD/g 2 x 10 ⁴ MLD/g 4 x 10 ⁴ MLD/g 2 x 10 ⁴ MLD/g

追 加 試 験

芽胞の添加試験において、馬刺くん製からバチルス属菌及びクロストリジウム属菌が検出されたため、添加試験開始時に予備として保存しておいた 8 袋及びその後買い上げにより追加した 50 袋を検査した。これらの結果を表 8～9 に示す。

予備として保存しておいた馬刺くん製 8 袋のうち 3 袋から各々細菌が検出され、その内訳は、*Clostridium malenominatum* (20 cfu/g)、*Clostridium cochlearium* (10 cfu/g)、*Candidatus roseomonas massiliae* (10 cfu/g)であった (表 3)。また、追加試験分として買い上げた 50 袋からはクロストリジウム属及びボツリヌス毒素は検出されなかったが、多数の *B. subtilis* が検出され (陽性数 43 検体/50 検体, 陽性率 86.0%), その汚染菌数は最高で 9,880 cfu/g であった。

表 8：馬刺くん製 8 袋の細菌試験結果 (予備保存分)

処理内容	陽性数/供試数	培養日数	検出された細菌
保存 (予備)	3/8	0	<i>C. malenominatum</i> (20 cfu/g) <i>C. cochlearium</i> (10 cfu/g) <i>Candidatus roseomonas massiliae</i> (10 cfu/g)

表 9 : 馬刺くん製の細菌試験結果(1) (買い上げ分)

(1) 非保存試験検体 (ロット A 及び B)

#	直接塗抹培養試験 (cfu/g)			増菌培養試験		
	<i>Bacillus</i>	<i>Clostridium</i>	マウス毒性	<i>Bacillus</i>	<i>Clostridium</i>	マウス毒性
A1	250	—	—		—	—
A2	3,780	—	—		—	—
A3	—	—	—	+	—	—
A4	—	—	—	+	—	—
A5	—	—	—	—	—	—
A6	—	—	—	+	—	—
A7	—	—	—	—	—	—
A8	10	—	—		—	—
A9	20	—	—		—	—
B1	10	—	—		—	—
B2	10	—	—		—	—
B3	—	—	—	+	—	—
B4	10	—	—		—	—
B5	—	—	—	+	—	—
B6	10	—	—		—	—
B7	10	—	—		—	—
B8	—	—	—	+	—	—
B9	10	—	—		—	—
B10	—	—	—	—	—	—
B11	1,730	—	—		—	—
B12	660	—	—		—	—
B13	—	—	—	+	—	—
B14	20	—	—		—	—
B15	—	—	—	+	—	—
B16	10	—	—		—	—

(2) 30°C, 14日間の保存後の試験検体 (ロットA及びB)

#	直接塗抹培養試験 (cfu/g)			増菌培養試験		
	<i>Bacillus</i>	<i>Clostridium</i>	マウス毒性	<i>Bacillus</i>	<i>Clostridium</i>	マウス毒性
A10	2,560	—	—	—	—	—
A11	220	—	—	—	—	—
A12	10	—	—	—	—	—
A13	—	—	—	—	—	—
A14	—	—	—	—	—	—
A15	—	—	—	—	—	—
A16	20	—	—	—	—	—
A17	1,170	—	—	—	—	—
A18	20	—	—	—	—	—
B17	—	—	—	—	—	—
B18	260	—	—	—	—	—
B19	90	—	—	—	—	—
B20	20	—	—	—	—	—
B21	10	—	—	—	—	—
B22	9,880	—	—	—	—	—
B23	20	—	—	—	—	—
B24	9,230	—	—	—	—	—
B25	8,990	—	—	—	—	—
B26	—	—	—	—	—	—
B27	300	—	—	—	—	—
B28	10	—	—	—	—	—
B29	—	—	—	+	—	—
B30	1,480	—	—	—	—	—
B31	—	—	—	+	—	—
B32	10	—	—	—	—	—

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に関する研究

分担研究者 田村 正秀 北海道立衛生研究所所長

研究要旨

不活化ガス充填加圧加熱殺菌食品（容器包装詰低酸性食品）を対象にボツリヌス菌芽胞の添加試験を行った。供試 2 製品については、芽胞添加後の保存試験において芽胞の発芽・増殖及び毒素産生が確認された。2 製品の理化学的性状は、pH 5.5～6.4、水分活性（Aw）0.96～0.98 の範囲で、いずれもボツリヌス菌の増殖可能範囲であった。これらの結果から、当該製品の取り扱いに関する指導を行う場合には欧米先進国に習い、製品の冷蔵保存が必要と考えられた。

A. 研究目的

平成 14 年度においては、容器包装詰低酸性食品のうち、不活化ガス充填加圧加熱殺菌食品を対象として、その理化学的性状及びボツリヌス菌芽胞添加後の発芽・増殖ならびに毒素の産生を確認することによって、当該食品におけるボツリヌス菌による危害発生の可能性を評価することを目的として実験を行った。

B. 研究方法

1. 供試検体

市販の不活化ガス充填加圧加熱殺菌食品を用いた。その内訳を表 1 に示す。

2. 検体の Aw, pH

Aw の測定については水分活性測定装置（ロトロニック、HYGRO-LAB）、pH の測定については pH メーター（東亜電波工業、HM-50V）を用い、液汁を含む製品については無処理のままを、また、液汁を含まない製品については、検体に蒸留水を加えて 2 倍乳剤とした試料を測定した。

3. 供試菌株

Clostridium botulinum type A 及び type B

を用いた。その内訳を表 2 に示す。

4. 芽胞の調製

供試 5 株を各々 TP 培地（5% Trypticase peptone;BBL, 5% Bacto peptone, pH 7.0）に接種し、37℃で一晩培養した。培養後、その 1 ml ずつを各々滅菌小試験管に採取し、これを 80℃で 20 分間加熱処理した後、再度 TP 培地 10 ml に接種して一晩培養した。この操作を 3 回繰り返す。培養液を顕微鏡下で観察して芽胞形成を確認した後、各培養液 1 ml を加熱処理し、各々を 1,000 ml の TP 培地に接種して培養した。経時的に各培養液を顕微鏡下で観察し、芽胞形成が十分に認められた培養液を出発材料とした。各培養液を遠心（6,000 回転 15 分間）して芽胞の濃厚浮遊液とし、その芽胞数を測定した後、小分けして使用するまで -30℃で保存した。

5. 接種用芽胞液の調製及び食品への接種

凍結保存された芽胞液を融解した後、各芽胞液を約 $2\sim 3 \times 10^7$ cfu/ml になるように希釈し、各希釈液を頭領ずつ混合して接種用芽胞液とした。

各供試製品 14 袋の表面を消毒用アルコールで十分に消毒した。開封部位を火炎で消毒したメスを用いて開封し、芽胞液 20 μ l を 8 袋に接種し、接種後、直ちにシーラー（卓上型ノズル式脱気シーラー、富士インパルス、V-400NTW）でシールした。このとき、別の 6 袋については開封後、芽胞を接種せずにシールし、芽胞非接種の対照とした。接種には滅菌注射器（テルモ、ツベルクリン用、針長 15 mm）を装着した分注器（Indicon, TRIDAK Division, STEPPER）を用いた。

6. 加熱処理

芽胞非接種の対照 6 検体と芽胞接種の 8 検体を低温殺菌機（石田式）を用い、80°C で 20 分間加熱した。加熱時間については、予め検体の熱伝導を測定し、検体の中心が 80°C に達するまでの時間（カムアップタイム、図 1~2）を加算した。

7. 加熱処理後の検体の分析

検体の内容全量を無菌的にストマフィルターに秤量し、これに等量の滅菌蒸留水を加えて 2 倍乳剤とした試料を分析用の出発材料とした。これをさらに 5 倍希釈して 10 倍乳剤を調製し、その 1 ml ずつを 2 枚の滅菌シャーレ及び 2 枚のアネロービック・パウチに各々接種し、各々標準寒天培地及びクロストリディア寒天培地を接種して混釈固化した。これを標準寒天については 37°C で 48 時間、クロストリディア培地については 37°C で 7 日間培養した。なお、2 倍乳剤については、pH も測定した。

芽胞を接種した 8 検体については、3 検体を初発芽胞数の測定に供し、残り 5 検体については保存試験（30°C で 90 日間）に供した。保存試験については、一般生菌数及びクロストリジウム数の測定の他に、ボツリヌス菌の測定を行い、ボツリヌス毒素の検出については、マウスを用いた毒性試験とその中和試験により行った。なお、マウスを用いた毒性試験とその中和試験については、毒素試料を濾過滅菌して飼育施設におけるボツリヌス菌汚染を防止し、ま

た、毒素試料注射後、生残したマウスについては動物愛護の観点から、炭酸ガスによって速やかに安楽死させた。

C. 研究結果

5 製品の不活化ガス充填加圧加熱殺菌食品総計 200 検体について行ったボツリヌス菌芽胞添加試験及び理化学試験の結果を表 3~4 に示す。

サバの味噌煮の理化学的性状は pH 6.0 ~6.4, Aw 0.94 で、ボツリヌス菌が増殖可能な性状であった。初発芽胞数（区分 E）は $6.5 \times 10^3 \sim 2.5 \times 10^4$ cfu/g の範囲であった。いずれの検体においてもボツリヌス菌の増殖ならびに A 型毒素と B 毒素の両方の産生が確認された。

鶏肉とごぼうの理化学的性状は pH 5.5 ~5.7, Aw 0.97~0.98 の範囲で、ボツリヌス菌が増殖可能な性状であった。その初発芽胞数（区分 E）は $4.0 \sim 4.5 \times 10^4$ cfu/g の範囲であった。芽胞を接種して保存試験を行った 5 検体（区分 F）については、いずれの検体においてもボツリヌス菌と A 型毒素が検出された。

D. 考察

試験に供した不活化ガス充填加圧加熱殺菌食品の理化学的性状は、いずれもボツリヌス菌の増殖可能な範囲で、芽胞の添加試験においてもボツリヌス菌の増殖と毒素の産生が確認された。

サバの味噌煮については、タンパク質成分が豊富であり、かつ容器包装内は多量の空気を含まず、また、液汁も存在することから、芽胞の発芽が比較的短時間内に起こり、毒素が産生されたと考えられた。鶏肉とごぼうについては、ボツリヌス菌の増殖と毒素産生が確認されるまでに 75 日を要した。本製品は容器包装内に多量の空気が含まれ、かつ液汁はほとんど含まない状態であったため、芽胞の発芽・増殖と毒素産生が容易には起こりにくい食品と考えられるが、鶏肉からの滲出液が食品全体に水分を与え、また、緩衝作用を示すことによって芽胞が発芽し易くなったと考えられた。

E. 結論

2 種類の不活化ガス充填加圧加熱殺菌食品について理化学的性状を調べた後、ボツリヌス菌芽胞の添加試験を行った。いずれの製品も理化学的性状はボツリヌス菌の増殖可能範囲で、芽胞添加後の保存試験において芽胞の発芽・増殖と毒素の産生が確認された。今後製造基準や製品の冷蔵保存等、当該食品の取り扱いに関する指導を行う場合には、原材料の把握、容器包装内の空気の度合い、理化学的性状、加熱殺菌温度と

暴露時間、保存料の使用の有無などを考慮する必要がある。

温度履歴曲線

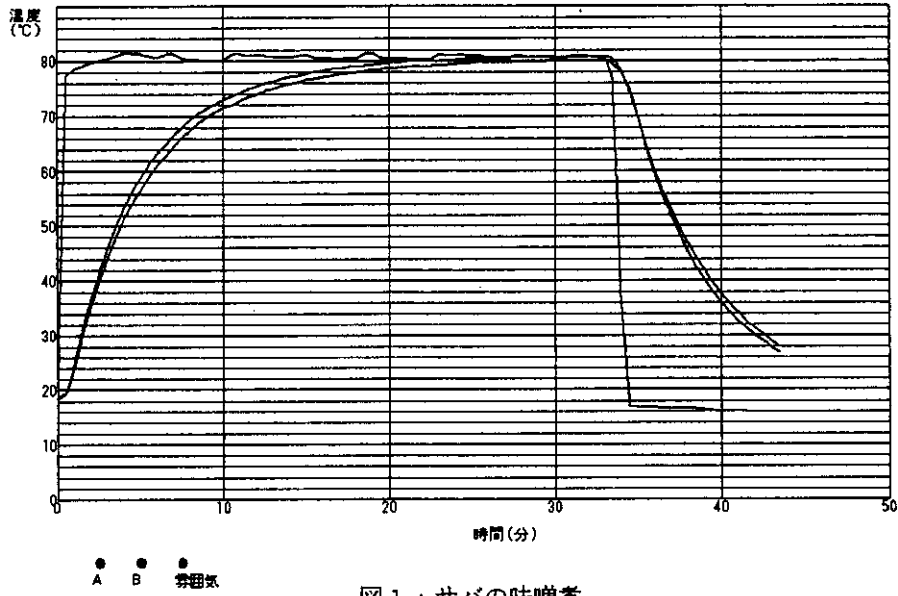


図1：サバの味噌煮

温度履歴曲線

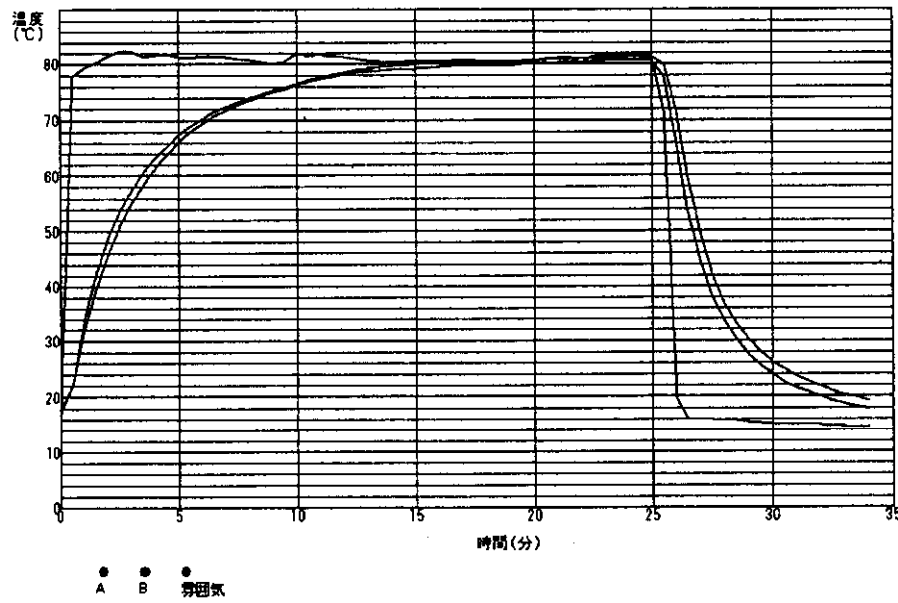


図2：鶏肉とごぼう

表 1 : 供試検体の内訳

品目記号	製品名	容器	総重量 (g)
A	サバのみそ煮 (2 切 入)	透明パウチ (平袋)	152~168
D	鶏肉とごぼう (70g)	透明パウチ (平袋)	106~108

表 2 : 菌株の血清型及び由来

菌株番号	血清型	由来
5101	A(62A)	ATCC 7984
5102	A(90A)	東海区水産研究所
5105	A(B1G4)	東海区水産研究所
5108	A(62A)	National Food Processors Association, U.S.A.
5106	B(213B)	東海区水産研究所

表3：容器包装詰低酸性食品のボツリヌス菌芽胞添加試験結果

担当：北海道衛研
 試験開始日：2002年12月5日

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	備考(毒素価等)
	無処理	3	21 22 23	理化学試験	0日	/	6.0 6.1 6.1	0.96 0.96 0.96	/	/	/	
A	無処理	3	15 16 17	細菌試験 (陰性確認)	0日	無			10未満 10未満 10未満	10未満 10未満 10未満		
B	無処理	3	18 19 20	保存試験 (未開封)	90日	無	6.2 6.1 6.2		10未満 10未満 10未満	10未満 10未満 10未満		
C	開封芽胞非接種	3	9 10 11	細菌試験 (開封操作確認)	0日	無			10未満 10未満 10未満	10未満 10未満 10未満		
D	開封芽胞非接種	3	12 13 14	保存試験 (開封)	90日	無	6.2 6.1 6.1		10未満 10未満 10未満	10未満 10未満 10未満		
E	開封芽胞接種	3	6 7 8	細菌試験 (接種菌数確認)	0日	無	6.2 6.1 6.2		10未満 10未満 10未満	6.5×10^3 9.8×10^3 2.5×10^4		
F	開封芽胞接種	5	1 2 3 4 5	細菌試験	14日 14日 14日 14日 14日	有 有 有 有 有	6.3 6.3 6.2 6.3 6.4		10未満 10未満 10未満 10未満 10未満	3.8×10^7 5.3×10^7 3.7×10^7 6.3×10^7 5.6×10^7	A,B A,B A,B A,B A,B	8×10^3 MLD/g 8×10^3 MLD/g 4×10^3 MLD/g 8×10^3 MLD/g 4×10^3 MLD/g

表4：容器包装詰低酸性食品のボツリヌス菌芽胞添加試験結果

検体名：[D]鶏肉とごぼう
 担当：北海道衛研
 試験開始日：2002年12月5日

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)	Dlt (cfu/g)	毒素型	備考(毒素価等)
	無処理	3	21 22 23	理化学試験	0日	/	5.5 5.5 5.6	0.98 0.97 0.97	/	/	/	
A	無処理	3	15 16 17	細菌試験 (毒性確認)	0日	無			10未満 10未満 10未満	10未満 10未満 10未満		
B	無処理	3	18 19 20	保存試験 (未開封)	90日	無	5.5 5.6 5.5		10未満 10未満 10未満	10未満 10未満 10未満		
C	開封芽胞非接種	3	9 10 11	細菌試験 (開封操作確認)	0日	無			10未満 10未満 10未満	10未満 10未満 10未満		
D	開封芽胞非接種	3	12 13 14	保存試験 (開封)	90日	無	5.6 5.5 5.6		10未満 10未満 10未満	10未満 10未満 10未満		
E	開封芽胞接種	3	6 7 8	細菌試験 (接種菌数確認)	0日	無	5.6 5.5 5.5		10未満 10未満 10未満	4.0×10^4 4.5×10^4 4.1×10^4		
F	開封芽胞接種	5	1 2 3 4 5	細菌試験	75日 75日 75日 75日 75日	有 有 有 有 有	5.7 5.7 5.7 5.6 5.7		10未満 10未満 10未満 10未満 10未満	5.1×10^6 5.6×10^6 4.9×10^6 7.3×10^6 5.5×10^6	A A A A A	8×10^2 MLD/g 8×10^2 MLD/g 1×10^3 MLD/g 4×10^2 MLD/g 2×10^2 MLD/g