

平成 18 年度農林水産省
食品製造工程管理
情報高度化促進事業

平成 18 年度
病原微生物データ分析実験作業
成果報告書

「腸炎ビブリオ O3:K6 株の増殖予測ソフト開発のための
基礎データ構築」

平成 19 年 2 月
国立大学法人 東京海洋大学
藤井建夫教授
木村 凡助教授

平成 18 年度

食品製造工程管理情報高度化促進事業病原微生物データ分析実験報告書

平成 19 年 2 月 28 日

東京海洋大学 藤井建夫、木村 凡

腸炎ビブリオ血清型 O3:K6 株の基礎データ構築

目 的：

1996 年のインドでの腸炎ビブリオ O3:K6 株による食中毒の発生を契機に、日本を含む東アジア諸国および米国において、本血清型の腸炎ビブリオによる食中毒が広域的に発生している¹⁾²⁾。なぜ血清型 O3:K6 株のみが世界的に食中毒原因菌となっているのかは不明であるが、考えられる可能性を整理すると、(1) 本株は他の血清型の株 (TDH 陽性、陰性を問わず) と食品中での増殖力が異なる、(2) 本株が他の血清型の株よりヒトへの感染力が強い、の 2 点に整理できる。このうち、水産加工業者にとっては、前者の情報、すなわち食中毒原因菌の本株がどのような条件で増殖しやすいのかについて知ることは重要である。

昨年度の本事業では、腸炎ビブリオ O3:K6 株 (TDH 陽性) および他の血清型各 40 株について、低温域 (5~15℃) における増殖特性を調べた。その結果、15℃において、本血清型の株が高い増殖能を示した。また 10℃において、多くの他の血清型の株において増殖が認められないことに対し、本血清型の多数の株では増殖が認められるなど、各条件での増殖力が異なることが示された。

そこで本年度の本事業では、腸炎ビブリオ O3:K6 株の各種条件 温度 (15~35℃)、pH (4.5~8.0)、水分活性 (塩分) (0.925~1.0) における詳細な増殖特性を調べ、予測微生物課題 (藤川氏担当予定) に必要な増殖データを提供することを目的とした。

腸炎ビブリオ O3:K6 株における詳細な増殖データの調査は、様々な条件下での信頼性の高い本血清型株の増殖モデル構築を可能とする。そして、本菌の増殖に関する予測微生物学的なソフトは国内外においてこれまでに開発されておらず、その新規性が高い。また、増殖予測ソフトが開発されれば、水産加工業者に対し、製造管理の点で非常に有用なものと考えられる。

実験設計:

Vibrio parahaemolyticus 1株について、温度5区分(15, 20, 25, 30, 35 °C)、pH 6区分(pH 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 7.0, 8.0)、水分活性(塩分)7区分(0.925, 0.94, 0.955, 0.97, 0.98, 0.99, 1.0)について、直接平板培養法により経時的な増殖データを測定する。

実験方法:

1. 供試菌株

東京都健康安全研究センターから分与された食中毒患者由来の *V. parahaemolyticus* O3:K6 (TDH 陽性, TRH 陰性) 1株 [V03-80]を使用した。本株は昨年度の本事業の結果、増殖速度が速く、特に高塩分濃度でその傾向が顕著に認められた株である。

2. 対象分析内容

V. parahaemolyticus 1株について、温度5区分(15, 20, 25, 30, 35 °C)、pH 6区分(pH 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 7.0, 8.0)、水分活性(塩分)7区分(0.925, 0.94, 0.955, 0.97, 0.98, 0.99, 1.0)を組み合わせ、経時的な増殖データを測定する。

3. 使用培地

前培養には、BBL-Trypticase Soy Broth (TSB) 培地[塩化ナトリウム(国産化学)を塩濃度 3.0% (w/v)になるよう添加; pH 7.2(未調整)]を使用した。

対象分析内容の実験区分には、BBL-Trypticase Soy Broth (TSB) 培地を用いた。なお、水分活性は塩化ナトリウム(国産化学)を、pHはHCl及びNaOHを用いて調整した。これらの使用培地は、121°Cで15分間高圧滅菌を行い、実験に使用した。

4. *V. parahaemolyticus* の増殖データ測定

TSB 培地(上述)で30°C、24時間静置培養した供試菌の前々培養液(8~9 LOG cfu/ml)について、その培養液をTSB 培地(上述)に接種し、30°C、24時間静置培養した供試菌の前培養液(1~2×8 LOG cfu/ml)を上記対象分析内容に記載した条件に調整した各水分活性、pH条件の6mL TSB 培地[L字型試験管 TN-5L (Advantec)を使用](上述)に2.0~3.0 (LOG cfu/mL)となるよう接種した。

その後、小型振盪培養装置[バイオフィトレコーダー TN-1506 (Advantec)]を用いて各温度条件下で振とう培養(45 rpm)を行い、その後、経時的に BBL-Trypticase Soy Agar (TSA) 平板培地 [塩化ナトリウム(国産化学)、寒天末をそれぞれ終濃度 1.8%(w/v) 2.0% (w/v)になるように添加] にスパイラルプレーター [EDDY JET(IUL)] を用いて塗抹し、30°C、一晚培養し、生菌数のカウントにより増殖を測定した。測定は 1

測定条件につき経時的に8回程度行った。なお、この実験を2回行い、その平均値を用いた。

結 果：

各温度、pH、Awでの増殖の有無について検討を行った結果、いずれの複合条件下においても、Aw 0.94以下、pH 4.5以下では増殖が認められず、菌数の減少、もしくは死滅が認められた(Table 1)。Aw 0.955での *V. parahaemolyticus* の増殖は、35°CにおいてpH 8.0、pH 7.0、30°C~20°CではpH 8.0~5.5で増殖が見られたが、15°Cにおいては、pH 8.0でのみ増殖が認められた。

また、pH 5.0での本菌の増殖は、35°C、15°Cではいずれの複合条件下でも増殖が認められず、30°C、25°CではAw 0.99~0.97で増殖が認められ、20°CにおいてはAw 0.99の条件でのみ増殖が認められる等、本菌の詳細な増殖・非増殖特性が明らかとなった(Table 1)。

本菌は、Aw 0.97、pH 6.0において35°C~30°Cで、増殖速度の大きな差異は認められなかった。しかし、35°C~30°Cでは12~16時間で8 LOG cfu/ml程度に達したが、20°Cでは32時間~40時間、15°Cでは96~120時間を要するなど、増殖速度への温度の影響が確認された (Fig. 1)。また、低水分活性条件下では、15°Cで定常期であっても菌数が4 LOG cfu/ml程度であった(Fig. 2)。

pH条件の増殖速度への影響は、pH 5.0以下で顕著に認められ(Fig. 3)、水分活性条件ではAw 0.955以下で増殖速度への明らかな影響が認められた(Fig. 4)

考 察：

腸炎ビブリオは海洋に広く存在するグラム陰性桿菌であり、魚介類を原因食品とする食中毒の原因菌として知られている。本菌の特徴として、増殖がきわめて早いことが挙げられ、至適増殖条件下では世代時間が8分程度であることが示されている³⁾。したがって、至適条件下においては2時間程度で食中毒発生菌量に達する恐れがあり、それを防ぐためにも増殖予測モデルの構築が望まれている。今年度は、各温度、pH、水分活性での複合条件下における増殖特性を調査した。

増殖モデリングに使用した生菌数については、昨年度と異なり、直接平板培養法により測定した。これにより、より信頼性の高い増殖データを調査することが可能と考えられた。

V. parahaemolyticus の増殖特性であるが、Aw 0.94以下、pH 4.5では増殖せず、死滅が確認された。また低温下では増殖可能なpH、水分活性域が著しく狭まることが確認された。

pH 8.0~7.0、Aw 1.0~0.97では増殖速度に大きな影響は見られず、pH 6.0以下、Aw 0.97以下より増殖速度を低下が認められる等、仁科ら⁴⁾の結果と一致した。しかし、

25℃、pH 6.0、Aw 0.97 の複合条件下では明確な増殖速度の低下が見られず、このような弱い pH、水分活性ストレス条件下では、20℃以下において増殖速度の低下が明確に認められた(Fig. 5)。

昨年度本事業の結果より、本菌が低温域でも増殖、生残することが示されたが、本年度の結果から、低温保存に付随し、pH 及び水分活性を調節することで本菌の増殖を大幅に防ぐことができるものと考えられた。pH、水分活性の調節は、温度不備の様な人為的なミスによる食中毒のリスクを低減できるものと推察され、水産加工食品製造において考慮に入れるべき点であると考えられた。しかし一方で、低 pH や低温ストレスを短時間受けた本菌株は、より高い生残能を示すデータも報告されており、慎重な検討が必要であると考えられた⁵⁾。

本菌株は pH 5.5 以下、Aw 0.955 以下で増殖速度の大幅な低下、もしくは死滅が認められたが、昨年度の結果と同様、増殖に不利な環境のためか、2 測定間に多少の誤差が見られた。また、これらの pH、水分活性における死滅と増殖の臨界領域については、菌株間や初発菌数による差異が推測できる⁶⁾。そのため、増殖モデル構築にあってもこれらの点を留意する必要がある。

要 約：

腸炎ビブリオ O3:K6 株 1 株を用いて、温度 4 区分(15, 20, 25, 35 °C)、pH 6 区分(pH 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 7.0, 8.0)、水分活性(塩分) 7 区分(0.925, 0.94, 0.955, 0.97, 0.98, 0.99, 1.0)について、直接平板培養法により経時的な増殖データを測定した。これにより、本菌の pH、水分活性条件における増殖・非増殖特性が明らかとなり、O3:K6 の増殖モデル作成が可能なものと考えられた。

今後の課題：

- 1) 今後の課題として、各種 pH、温度、水分活性の液体培地における増殖実測値と、本年度に作成された O3:K6 増殖モデリングのソフト(プロット版)で予測される増殖結果と比較し、in vitro における検証実験を行う必要がある。その上で、ソフトの修正を行う必要がある。
- 2) 食品等の固体表面上での生育は、浮遊状態での増殖特性と異なり、他にも栄養条件によっても増殖特性が異なるという報告がなされていることから⁷⁾⁸⁾、今後、本菌のリスクが高いと考えられる実際の食品を用いた系において、ソフト(修正版)で予測される増殖結果と比較し、in vitro における検証を行う必要がある。

文 献 :

- 1) C. Matsumoto, J. Okuda, M. Ishibashi, M. Iwanaga, P. Garg. T. Rammamurthy, H-C. Wong, A. Depaola, Y. Kim, M. Albert. M. Nishibuchi. 2000. Pandemic Spread of an O3:K6 Clone of *Vibrio parahaemolyticus* and emergence of related strains evidenced by arbitrarily primed PCR and *toxRS* sequence analyses. *J. Clin. Microbiol.*, 38:578-585
- 2) J. Okuda, M. Ishibashi, E. Hayakawa, T. Nishino, Y. Takeda, A. Mukhopadhyay, S. Garg, M. Nishibuchi. 1997. Emergence of a unique O3:K6 clone of *Vibrio parahaemolyticus* in Calcutta, India, and isolation of strains from the same clonal groupe from Southeast Asian travelers arriving in Japan. *J. Clin. Microbiol.*, 35:3150-3155
- 3) Katho H. 1965. Studies on the growth rate of various food bacteria. 1. The generation time of *Vibrio parahaemolyticus* 日本細菌学雑誌, 20:94-99
- 4) 仁科徳啓. 和田正道. 小澤宏和. 工藤由紀子. 小沼博隆. 長谷川順子. 熊谷進. 2004. 各種 pH, 塩濃度および温度条件による *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 の増殖動態. 食品衛生学雑誌. 45:35-37
- 5) H.-C. Wong, C.-N. Chang, M.-Y. Chen. 2004. Effects of heat, acid, and freeze-thaw challenges on survival of starved *Vibrio parahaemolyticus* in minimal salt medium, tryptic soy broth, and filtered oyster homogenate medium. *J. Food Prot.*, 67:1243-1246
- 6) Konstantinos P. Koutsoumanis, John N. Sofos. 2005. Effect of inoculum size on the combined temperature, pH and a_w limits for growth of *Listeria monocytogenes*. *Int. J. Food Microbiol.*, 104:83-91
- 7) Konstantinos P. Koutsoumanis, Patricia A. Kendall, John N. Sofos. 2004. A comparative study on growth limits of *Listeria monocytogenes* as affected by temperature, pH and a_w when growth in suspension or on a solid surface. *Food Microbiol.*, 21:415-422
- 8) Wilson P.D.G., Brocklehurst T.F., Wimpenny J.W.T., 2002. Modelling microbial growth in structured foods: towards a unified approach. *Int. J. Food Microbiol.*, 73:275-289

Table 1. 各温度, pH, Aw 条件下での V03-80 株の増殖能の有無

(a)35°C, (b)30°C, (c)25°C, (d)20°C, (e)15°C (●)増殖, (○)死滅

(a)							(b)						
	pH 8.0	7.0	6.0	5.5	5.0	4.5		pH 8.0	7.0	6.0	5.5	5.0	4.5
1.0*	●	●	●	○	○	○	1.0*	●	●	●	●	○	○
0.99	●	●	●	●	○	○	0.99	●	●	●	●	●	○
0.98	●	●	●	●	○	○	0.98	●	●	●	●	●	○
0.97	●	●	●	●	○	○	0.97	●	●	●	●	○	○
0.955	●	●	○	○	○	○	0.955	●	●	●	●	○	○
0.94	○	○	○	○	○	○	0.94	○	○	○	○	○	○
0.925	○	○	○	○	○	○	0.925	○	○	○	○	○	○

(c)							(d)						
	pH 8.0	7.0	6.0	5.5	5.0	4.5		pH 8.0	7.0	6.0	5.5	5.0	4.5
1.0*	●	●	●	●	○	○	1.0*	●	●	●	●	○	○
0.99	●	●	●	●	●	○	0.99	●	●	●	●	●	○
0.98	●	●	●	●	●	○	0.98	●	●	●	●	○	○
0.97	●	●	●	●	●	○	0.97	●	●	●	●	○	○
0.955	●	●	●	●	○	○	0.955	●	●	●	●	○	○
0.94	○	○	○	○	○	○	0.94	○	○	○	○	○	○
0.925	○	○	○	○	○	○	0.925	○	○	○	○	○	○

(e)						
	pH 8.0	7.0	6.0	5.5	5.0	4.5
1.0*	●	●	●	●	○	○
0.99	●	●	●	●	○	○
0.98	●	●	●	●	○	○
0.97	●	●	●	●	○	○
0.955	●	○	○	○	○	○
0.94	○	○	○	○	○	○
0.925	○	○	○	○	○	○

*NaCl 非添加 TSB (水分活性測定器 Aqua Lab での実測値:Aw 1.0)

備考: Aw 0.99;NaCl 4.5%(w/v), Aw 0.98;NaCl 5.5%(w/v), Aw 0.97;NaCl 6.5%(w/v)
Aw 0.955;NaCl 8.9%(w/v), Aw 0.94;NaCl 11.9%(w/v), Aw 0.925;NaCl 14.2%(w/v).

Table 2. 35°C, Aw1.0, 各 pH 条件における V03-80 株の生菌数

pH 条件	pH 8.0	pH 7.0	pH 6.0
Time(hours)	生菌数(log・cfu/ml)		
0	2.86	2.80	2.93
1	—	2.88	—
2	—	3.36	—
3	3.65	4.05	—
4	—	4.67	4.58
5	—	5.27	—
6.5	4.27	6.18	—
8	—	7.19	5.49
9.5	—	8.16	—
10	4.74	—	—
11	—	8.55	—
12	—	8.47	6.25
14	5.19	—	—
16	—	—	8.37
18	8.16	—	—
21	8.57	—	—

Table 3. 35°C, Aw0.99, 各 pH 条件における V03-80 株の生菌数

pH 条件	pH 8.0	pH 7.0	pH 6.0	pH 5.5
Time(hours)	生菌数(log・cfu/ml)			
0	2.85	2.84	2.88	2.90
0.5	2.92	2.97	2.82	—
1	3.24	3.14	2.92	—
2	4.34	4.11	3.54	—
3	5.43	5.08	4.27	3.39
4	6.41	6.15	5.05	—
5	7.93	7.25	5.67	—
6.5	8.75	8.51	6.89	5.47
8	9.01	8.88	8.09	—
9.5	9.11	8.96	8.93	—
10	—	—	—	7.75
11	8.89	8.68	8.45	—
14	—	—	—	8.24
18	—	—	—	6.98

Table 4. 35°C, Aw0.98, 各 pH 条件における V03-80 株の生菌数

pH 条件	pH 8.0*	pH 7.0*
Time(hours)	生菌数(log・cfu/ml)	
0	5.54	5.54
1	5.81	5.77
1.5	—	6.15
2	6.72	6.65
3	7.62	7.23
4	8.32	8.11
5	8.59	8.31
6	8.69	8.57
7	8.8	—

Table 5. 35°C, Aw0.97, 各 pH 条件における V03-80 株の生菌数

pH 条件	pH 8.0	pH 7.0	pH 6.0	pH 5.5
Time(hours)	生菌数(log・cfu/ml)			
0	2.77	2.76	2.90	2.87
0.5	2.77	2.74	—	—
1	2.96	2.89	—	—
2	3.55	3.48	—	—
3	4.39	4.25	—	2.59
4	5.48	5.30	3.92	—
5	5.86	5.63	—	—
6.5	7.25	7.07	—	3.57
8	8.43	8.10	5.79	—
9.5	8.88	8.66	—	—
10	—	—	—	5.16
11	8.73	8.67	—	—
12	8.87	8.69	7.91	—
14	—	—	—	6.55
16	—	—	8.36	—
18	—	—	—	8.15
20	—	—	8.35	—
21	—	—	—	8.38
24	8.98	8.14	6.33	8.09

Table 6. 35°C, Aw0.955, 各 pH 条件における V03-80 株の生菌数

pH 条件	pH 8.0	pH 7.0
Time(hours)	生菌数(log・cfu/ml)	
0	2.74	2.81
5	2.69	2.89
10	3.33	3.24
16	3.68	4.36
24	6.11	6.04
32	8.06	7.51
40	8.03	7.78
48	8.02	7.56

Table 7. 30°C, Aw 1.0, 各 pH 条件における V03-80 株の生菌数

pH 条件	pH 8.0	pH 7.0	pH 6.0	pH 5.5
Time(hours)	生菌数(log・cfu/ml)			
0	2.78	2.72	2.74	2.77
0.5	2.96	2.69	—	—
1	2.92	2.85	—	—
2	—	3.23	—	—
3	3.25	4.00	3.98	—
4	3.75	4.69	—	3.30
5	4.12	5.28	—	—
6.5	4.64	6.52	5.81	—
8	5.63	7.26	—	5.15
9.5	6.24	8.11	—	—
10	—	—	8.27	—
11	7.15	8.60	—	—
12	8.04	8.84	—	6.68
16	—	—	8.56	8.52
20	—	—	—	8.67
24	8.53	8.91	—	7.63

Table 8. 30°C, Aw 0.99, 各 pH 条件における V03-80 株の生菌数

pH 条件	pH 8.0	pH 7.0	pH 6.0	pH 5.5	pH 5.0
Time(hours)	生菌数(log・cfu/ml)				
0	2.78	2.81	2.80	2.71	2.77
0.5	2.94	2.99	—	—	—
1	3.10	3.05	—	—	—
2	3.85	3.75	—	—	—
3	4.78	4.54	4.02	3.44	2.65
4	5.71	5.54	—	—	—
5	6.70	6.48	—	—	—
6.5	7.99	7.92	5.72	5.09	2.67
8	8.68	8.54	—	—	—
9.5	8.97	8.94	—	—	—
10	—	—	8.13	6.87	4.66
11	9.02	8.89	—	—	—
16	—	—	8.18	8.31	3.90
24	8.99	8.88	—	7.04	—
32	—	—	—	—	8.04
40	—	—	—	—	8.11

Table 9. 30°C, Aw 0.98, 各 pH 条件における V03-80 株の生菌数

pH 条件	pH 8.0	pH 7.0	pH 6.0
Time(hours)	生菌数(log・cfu/ml)		
0	5.62	5.28	2.87
1	5.89	5.3	2.89
1.5	6.18	—	—
2	6.51	5.38	3.14
3	7.08	5.73	3.86
4	7.83	6.36	4.55
5	8.12	7.18	4.8
6	8.75	7.81	—
6.5	—	—	5.8
7	8.65	8.34	—
8	—	8.44	6.59
9.5	—	—	7.23
11	—	—	8.25
12	—	—	8.43

Table 10. 30°C, Aw 0.97, 各 pH 条件における V03-80 株の生菌数

pH 条件	pH 8.0	pH 7.0	pH 6.0	pH 5.5
Time(hours)	生菌数(log・cfu/ml)			
0	2.74	2.85	2.84	2.64
0.5	2.85	—	—	—
1	3.01	—	—	—
2	3.28	—	—	—
3	3.99	—	—	—
4	4.48	4.56	3.69	—
5	5.00	—	—	2.93
6.5	5.62	—	—	—
8	6.88	6.15	5.76	—
9.5	7.93	—	—	—
10	—	—	—	4.43
11	8.59	—	—	—
12	8.76	8.70	7.23	—
14	—	—	—	5.64
16	—	8.74	8.56	—
20	—	8.91	8.68	—
24	9.11	8.90	8.68	8.49
32	—	—	—	8.38
40	—	—	—	6.85

Table 11. 30°C, Aw 0.955, 各 pH 条件における V03-80 株の生菌数

pH 条件	pH 8.0	pH 7.0	pH 6.0	pH 5.5
Time(hours)	生菌数(log・cfu/ml)			
0	2.33	2.46	2.63	2.64
5	3.07	2.87	—	—
8	—	—	2.21	1.79
10	4.61	3.55	—	—
16	5.82	5.34	—	—
24	8.69	6.32	3.55	2.88
32	8.66	8.65	—	—
38	—	—	4.68	5.19
40	8.55	8.54	—	—
48	8.58	8.23	5.03	5.59
64	—	—	8.28	7.83
72	8.5	7.39	8.27	8.19
88	—	—	8.18	8.26
96	—	—	—	8.06

Table 12. 25°C, Aw 1.0, 各 pH 条件における V03-80 株の生菌数

pH 条件	pH 8.0	pH 7.0	pH 6.0	pH 5.5
Time(hours)	生菌数(log・cfu/ml)			
0	2.86	2.85	2.94	2.85
1	—	—	—	—
2	—	—	—	—
3	3.34	—	—	—
4	—	4.13	3.86	—
5	—	—	—	3.06
6.5	5.72	—	—	—
7	—	—	—	—
8	5.29	6.19	6.14	—
9	—	—	—	—
10	6.47	—	—	4.46
12	7.17	8.27	7.47	—
16	—	8.80	8.63	6.45
20	—	8.88	8.67	—
24	9.07	8.85	8.64	8.19
32	—	—	—	8.51
40	—	—	—	7.56

Table 13. 25°C, Aw 0.99, 各 pH 条件における V03-80 株の生菌数

pH 条件	pH 8.0	pH 7.0	pH 6.0	pH 5.5	pH 5.0
Time(hours)	生菌数(log・cfu/ml)				
0	2.83	2.84	2.86	2.87	2.84
0.5	3.02	2.90	—	—	—
1	3.05	3.00	—	—	—
2	3.43	3.29	—	—	—
3	4.02	3.93	3.24	3.25	—
4	4.60	4.44	—	—	—
5	5.26	5.08	—	—	—
6.5	6.06	5.93	5.87	4.42	—
8	7.11	6.94	—	—	—
9.5	8.05	7.88	—	—	—
10	—	—	7.12	5.55	3.11
11	8.43	8.45	—	—	—
12	8.71	8.66	—	—	—
14	—	—	8.06	6.87	—
18	—	—	8.45	8.22	—
21	—	—	8.66	8.52	—
24	9.12	9.05	8.14	8.53	4.03
38	—	—	—	—	4.91
52	—	—	—	—	6.85
66	—	—	—	—	7.57

Table 14. 25°C, Aw 0.97, 各 pH 条件における V03-80 株の生菌数

pH 条件	pH 8.0	pH 7.0	pH 6.0	pH 5.5	pH 5.0
Time(hours)	生菌数(log・cfu/ml)				
0	2.88	2.84	2.85	2.87	2.19
4	3.67	—	—	—	—
5	—	3.95	3.61	3.43	—
8	5.59	—	—	—	—
10	—	6.17	5.00	4.31	—
12	6.60	—	—	—	—
16	7.28	8.31	6.73	6.26	—
20	9.02	—	—	—	—
24	8.97	9.00	8.68	8.41	2.31
32	—	9.03	8.79	8.65	—
40	—	8.89	8.26	8.21	—
48	9.05	8.95	7.21	7.49	3.94
72	—	—	—	—	4.74
96	—	—	—	—	6.01
120	—	—	—	—	8.07

Table 15. 25°C, Aw 0.955, 各 pH 条件における V03-80 株の生菌数

pH 条件	pH 8.0	pH 7.0	pH 6.0	pH 5.5
Time(hours)	生菌数(log・cfu/ml)			
0	2.74	2.78	2.81	2.69
5	2.37	—	—	—
10	3.54	3.67	3.17	—
16	4.88	—	—	—
24	6.49	5.76	4.04	3.58
32	8.15	—	—	—
38	—	8.54	4.38	—
40	8.67	—	—	—
48	8.65	—	—	5.66
52	—	8.65	6.15	—
66	—	8.77	7.54	—
72	8.84	—	—	7.21
80	—	8.54	8.68	—
96	—	8.53	8.71	8.48
120	—	8.72	7.98	7.17

Table 16. 20°C, Aw 1.0, 各 pH 条件における V03-80 株の生菌数

pH 条件	pH 8.0	pH 7.0	pH 6.0	pH 5.5
Time(hours)	生菌数(log・cfu/ml)			
0	2.83	2.91	2.79	3.20
5	3.40	3.52	3.27	—
10	4.55	5.01	5.04	3.54
16	7.91	7.87	7.07	—
24	9.04	8.88	8.68	5.47
32	9.01	8.88	8.62	—
38	—	—	—	7.12
40	9.17	8.91	8.44	—
48	9.28	9.01	7.23	—
52	—	—	—	8.32
66	—	—	—	8.45
72	9.24	8.93	—	—

Table 17. 20°C, Aw 0.99, 各 pH 条件における V03-80 株の生菌数

pH 条件	pH 8.0	pH 7.0	pH 6.0	pH 5.5	pH 5.0
Time(hours)	生菌数(log・cfu/ml)				
0	2.82	2.89	2.91	2.94	3.25
3	—	3.39	3.18	—	—
5	3.71	—	—	3.24	—
6.5	—	4.85	4.26	—	—
10	5.41	5.86	5.29	4.24	3.56
14	—	7.29	5.71	—	—
16	7.67	—	—	5.47	—
18	—	8.66	7.36	—	—
21	—	8.92	8.31	—	—
24	9.04	8.95	8.63	6.75	3.82
32	9.22	—	—	8.44	—
38	—	—	—	—	4.01
40	9.10	—	—	8.63	—
48	9.27	—	5.48	7.06	—
52	—	—	—	—	4.29
66	—	—	—	—	4.06
80	—	—	—	—	4.37
96	—	—	—	—	4.25
120	—	—	—	—	4.30

Table 18. 20°C, Aw.0.97, 各 pH 条件における V03-80 株の生菌数

pH 条件	pH 8.0	pH 7.0	pH 6.0	pH 5.5
Time(hours)	生菌数(log・cfu/ml)			
0	2.72	2.94	2.79	3.28
5	3.15	3.25	3.04	—
10	4.23	4.42	3.87	3.94
16	5.63	5.87	4.56	—
24	7.46	7.81	6.05	5.38
32	8.88	8.99	7.60	—
38	—	—	—	6.99
40	9.17	9.19	8.30	—
48	9.25	9.20	8.95	—
52	—	—	—	8.23
66	—	—	—	8.68
72	9.17	9.03	8.07	—
80	—	—	—	8.25
96	—	—	—	8.08

Table 19. 20°C, Aw 0.955, 各 pH 条件における V03-80 株の生菌数

pH 条件	pH 8.0	pH 7.0	pH 6.0	pH 5.5
Time(hours)	生菌数(log・cfu/ml)			
0	2.73	2.94	2.94	2.98
24	3.87	3.72	3.59	2.68
48	5.37	5.42	4.45	3.45
72	8.00	7.56	5.60	3.73
96	8.82	8.89	6.82	3.94
120	8.90	8.95	7.96	4.45
144	8.82	8.75	8.51	4.13
168	8.74	8.99	8.49	5.05
192	8.63	7.92	8.02	5.67

Table 20. 15°C, Aw 1.0, 各 pH 条件における V03-80 株の生菌数

pH 条件	pH 8.0	pH 7.0	pH 6.0	pH 5.5
Time(hours)	生菌数(log・cfu/ml)			
0	3.18	3.26	2.84	2.95
10	3.29	3.12	3.45	—
16	—	—	4.11	—
24	4.35	4.00	—	4.00
32	—	—	4.55	—
38	6.99	5.02	—	—
42	—	—	6.27	—
48	—	—	7.76	5.76
52	8.88	7.11	—	—
66	9.03	8.71	8.73	—
72	—	—	—	7.67
80	9.21	8.90	8.26	—
96	9.20	8.89	6.09	8.54
120	9.34	8.84	—	8.54

Table 21. 15°C, Aw 0.99, 各 pH 条件における V03-80 株の生菌数

pH 条件	pH 8.0	pH 7.0	pH 6.0	pH 5.5
Time(hours)	生菌数(log・cfu/ml)			
0	3.27	3.25	2.84	2.88
10	5.12	4.10	3.19	3.86
16	—	—	4.30	—
24	5.62	5.61	—	5.08
32	—	—	4.71	—
38	8.06	8.54	—	5.68
48	—	—	5.30	—
52	9.07	8.84	—	7.51
66	9.06	8.91	7.57	8.58
80	9.12	9.10	7.78	8.88
96	9.27	8.90	8.49	—
120	—	—	8.03	—

Table 22. 15°C, Aw 0.97, 各 pH 条件における V03-80 株の生菌数

pH 条件	pH 8.0	pH 7.0	pH 6.0	pH 5.5
Time(hours)	生菌数(log・cfu/ml)			
0	2.77	2.75	2.80	3.02
10	3.23	3.18	3.11	—
16	4.34	4.15	3.95	—
24	—	—	—	3.91
32	4.73	4.81	4.30	—
42	5.93	5.45	5.13	—
48	6.27	6.14	5.16	4.99
66	8.01	7.59	6.29	—
72	—	—	—	6.13
80	8.30	8.48	7.07	—
96	8.86	8.77	7.98	7.77
120	8.94	8.84	7.03	8.96
144	—	—	—	7.94
168	—	—	—	7.11
192	—	—	—	5.94

Table 23. 15°C, Aw 0.955, 各 pH 条件における V03-80 株の生菌数

pH 条件	pH 8.0
Time(hours)	生菌数(log・cfu/ml)
0	2.81
24	3.21
48	3.63
72	4.33
96	4.65
120	4.20
144	3.95
168	3.71
192	3.61



