

する場合には、最大限の安全性を確保するために殺菌条件の設定を慎重に行う必要がある。

### 2.3 膜による除菌

膜による除菌は膜に開けられた孔を菌体の大きさやその形態のため物理的に通過できない細菌や、電氣的に膜に吸着して通過できない細菌を取り除く方法である。膜による除菌を清涼飲料水の分野に応用する場合、固形物の多い飲料には適用できないという制限がある。しかし、飲料中から芽胞を除去できるため [59]、他の殺菌方法と併用することによって、飲料の安全性を高めることができる可能性がある。

ろ過の効率に影響する因子として膜の孔の大きさ、膜の材質、膜の表面積、流速、液体の容量、液体の粘度等がある [60]。除菌を目的とする場合、孔の大きさが  $0.22 \mu\text{m}$  のものが用いられる [57,60]。膜の材質によっては飲料中の成分を吸着する場合があるので材質の選定には注意しなければならない [60]。飲料が強い酸性もしくはアルカリ性の場合、飲料の影響によって膜や膜ホルダーの材質が変質し、飲料中に溶出する場合や、変質した結果、膜の性能が低下する恐れがある [60]。また、製造会社によって膜の性能が大きく違うことが報告されているため [59]、あらかじめ十分な性能試験を行う必要がある。

細菌の形態が膜の透過に影響を与えることが報告されている [57]。また、低栄養状態の細菌の方が菌体サイズが小さいため、膜を透過し易くなることが示唆されている

[57]。さらに、飲料中の細菌の濃度が膜の透過に影響を与えるとの報告もある [57]。膜の取り扱いには十分気をつけ、破損などによる性能の低下を招かないようにしなければならない。

最近、孔サイズ  $0.22 \mu\text{m}$  の膜を透過できる *Hylemonella gracilis* という細菌の存在が報告されている [57,58]。この細菌は通常の河川に存在し、飲料水中からも検出されている [57,58]。現在のところ、この細菌が清涼飲料水の品質にどのような影響を与えるのか詳しく明らかになっていないが、他の殺菌法を併用せず、膜による除菌だけを行う場合には注意する必要があると思われる。

## D. 考察

### 1. 清涼飲料水中の細菌の動態に関するデータ収集

今回、なるべく多くの種類の飲料、細菌に関するデータを収集しようと試みたが、残念ながら公表されている文献の多くは特定の飲料における特定の細菌の動態を調べたものであった。飲料種に関しては米国で好んで飲用され、また微生物事故の件数が多い果汁飲料、特にリンゴジュースに関するものが多く、日本国内の清涼飲料水事故の現状とは一致しない。日本国内で消費量の多い茶系飲料、炭酸飲料、コーヒー飲料、スポーツドリンクなどに関するデータはほとんど見当たらなかった。また、細菌種に関していえば、*E. coli* O157:H7 に関する文献が非常に多く見られたが、これ

は米国で *E. coli* O157:H7 に汚染したリンゴジュースによる集団食中毒が多発しているため、日本国内の現状とは必ずしも合致しない。実際に PET ボトル飲料を直接飲用した後、PET ボトル内の細菌を調べた国内の研究では [1], *Staphylococcus* 属, *Lactobacillus* 属, *Streptococcus* 属, *Neisseria* 属が検出されているが、これらの細菌の清涼飲料水中での動態に関するデータは非常に少ない。そこで、日本国内の現状に合致するように対象を設定した接種試験を今後行う必要がある。しかし今回見てきたように、条件の組み合わせによって細菌の動態は多様な変化を示すことがわかっている。その条件をもう一度列挙すると次のようになる。

1. 飲料側の因子
  - (a) pH
  - (b) 成分
  - (c) 添加物
2. 細菌側の因子
  - (a) 菌種, 菌株
  - (b) 酸性条件に対する順応, 耐性
  - (c) 異菌種間の相互作用
  - (d) 細菌が増殖曲線のどの過程にあるか
3. 環境側の因子
  - (a) 温度

これらの因子の組み合わせの数だけ細菌の動態は変化する可能性がある。例えば、同じ菌種の中でも菌株によって驚くほど動態が異なっている場合がある。つまり、標

準株を用いて実験を行っても、必ずしも実際の汚染状況を再現できるわけではない。よって今後、接種試験を行い清涼飲料水中の細菌の動態を調査する場合には、これらのパラメーターの設定を慎重に行う必要がある。どのような飲料を用いるのか、どのような菌種を用いるのか、調査、検討を行い、決定しなければならない。そのためには、すでに我々の研究班で行っている企業や自治体を対象にした清涼飲料水事故に関するアンケートの結果が役立つと考えられる。また、実際に飲み残し試験を行って、どのような細菌によって飲料が汚染されるのか調査する必要があると思われる。以上のことを考慮して、次年度以降は日本国内の現状を反映した接種試験を行い、清涼飲料水中の細菌の動態を明らかにしていくつもりである。

## 2. 清涼飲料水の殺菌・除菌方法に関するデータ収集

加熱殺菌以外の殺菌・除菌方法であるオゾン殺菌、紫外線殺菌、膜による除菌について見てきた。加熱殺菌の場合もそうであるが、これら非加熱の殺菌・除菌方法でも、条件の決定はさまざまな要因を考慮する必要がある。考慮すべき要因として今回明らかになったのは次のとおりである。

- 対象飲料の成分が殺菌・除菌効率に与える影響
  - 有機物・固形物の含量, 微生物叢の量, pH, 色, 温度など
- 対象殺菌・除菌法が飲料の品質に及ぼ

す影響

— 栄養成分の減少, 沈殿の形成, 色調の変化, 味・臭いの変化, 容器の変質など

- 対象殺菌・除菌法に対する細菌側の感受性

この様に考慮しなければならない要因は非常に多岐にわたっており, さらにこれらに安全率を掛け合わせて条件を決定していかなければならない。つまり, 製品の数だけ条件が存在することになるため, 細かな殺菌・除菌条件を基準として設定するのは現実的でない。実際, すでに紫外線殺菌を清涼飲料水の殺菌に単独で利用している米国でも, 細かな殺菌・除菌条件の基準は決められておらず, 「細菌数が 5-log 減少する (5-log reduction)」殺菌・除菌を行う, という FDA が定める指針が存在するだけである [61,62]。日本国内では食品衛生法に基づく規格基準に含まれている「85 °C 30 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」という規定があるので, 基本的にはこの規定に従って各製造所で加熱殺菌との同等性を評価してゆけば良いと思われる。ただし今後, 海外からの非加熱殺菌を単独で用いた清涼飲料水の輸入が増加すれば, 海外の基準, 例えば米国の 5-log reduction と我国の加熱殺菌を基にした基準が同等の性能を有するか評価していく必要があると思われる。

## E. 結論

今回, 清涼飲料水中における細菌の動態と加熱殺菌以外の殺菌・除菌法に関するデータ種集を行なった。清涼飲料水中における細菌の動態に関するデータでは特定の飲料種, 細菌種に偏った報告が多く, 必ずしも国内の現状と一致するものではなかった。今後, 国内の状況にあったデータを得るために接種試験などを行なっていく必要が認められた。

オゾン殺菌, 紫外線殺菌, 膜による除菌などの殺菌・除菌方法は制限が多く清涼飲料水を含めた食品分野では応用が進んでいない。しかし, これらの殺菌・除菌方法には加熱殺菌にはない特徴をそれぞれ持っているため, 単独で使用するのではなく加熱殺菌を補完する目的で使用するのが適当であると考えられた。また, 膜による除菌に関するデータはほとんど公表されていないことがわかった。今後, 補足試験を行いデータの拡充をおこなう必要性が認められた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 大西貴弘, 室井正志, 棚元憲一: MD-2 非発現細胞における新しい LPS 認識機構. エンドトキシン研究 12 (in press).

## 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 の炎症性サイトカイン誘導能. 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

表 1: 清涼飲料水における細菌の動態に関する研究  
(茶系飲料, ミネラルウォーターを除く)

文献番号	飲料種別	細菌	実験方法	結果
[1]	全般	口腔内細菌	<p>PET ボトル飲料の直接飲用で            PET ボトル内に混入した口腔            内在菌の変動を調べた。各飲            料から 5 秒間 1 回直接飲用し、            その後、25 °C、8 時間までの            生菌数を測定した。サンプルは            20-30% 果汁飲料 7 種類、緑茶            飲料、麦茶飲料、スポーツ飲料            各 5 種類、ウーロン茶飲料、紅            茶 4 種類を用いた。</p>	<p>直接飲用のため細菌がボトル内に混入したが、            保存時間と共に菌数は減少して行った。特に緑            茶飲料、ウーロン茶飲料は減少が急速であり、            培養開始 8 時間後には生菌を認めなかった。し            かし、それ以外の飲料では菌数の減少が緩慢で            あり 8 時間後にも生菌が認められた。果汁飲            料 1 サンプル、スポーツ飲料 1 サンプルで培            養開始 2 時間後に一時的に菌数が上昇したが、            それ以外のサンプルで菌数が上昇することは無            かった。また、同じカテゴリーの飲料でも銘柄            によって菌数の変化に大きな違いが見られた。            今回は <i>Staphylococcus</i> 属、<i>Lactobacillus</i> 属、  <i>Streptococcus</i> 属、<i>Neisseria</i> 属が検出された。            培養開始 8 時間後でも生菌が認められたのは  <i>Staphylococcus</i> 属と <i>Streptococcus</i> 属であった。</p>

表 1: 清涼飲料水における細菌の動態に関する研究  
(茶系飲料, ミネラルウォーターを除く)

文献番号	飲料種別	細菌	実験方法	結果
			<p>上記の試験で培養開始 8 時間後に <i>Staphylococcus</i> 属と <i>Streptococcus</i> 属が検出されたので, <i>S. aureus</i>, <i>S. pyogenes</i> を各飲料に <math>10^3</math> cfu/ml 接種し, 24 時間後の菌数を測定した。サンプルは果汁飲料, 緑茶飲料, 麦茶飲料, ウーロン茶飲料, 紅茶飲料, スポーツ飲料, 乳酸菌飲料を <i>S. aureus</i> 接種試験時には計 67 サンプル, <i>S. pyogenes</i> 接種試験時には計 15 サンプル用いた。</p>	<p><i>S. aureus</i> 接種試験</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 菌数は減少したが, 24 時間後でも果汁飲料全サンプルで残存した。これに対して紅茶飲料(無糖), ウーロン茶飲料では <math>1/100-1/1000</math> に減少した。</li> <li>• 麦茶飲料では約 10 倍程度, 紅茶飲料(ミルクテイ)では 3 サンプルが 10-100 倍程度菌数が増加した。</li> <li>• エンテロトキシンの産生は見られなかった。</li> <li>• 同じカテゴリーの飲料でも種類によって菌数の変化に大きな差が見られた。</li> </ul>

表 1: 清涼飲料水における細菌の動態に関する研究  
(茶系飲料, ミネラルウォーターを除く)

文献番号	飲料種別	細菌	実験方法	結果
[2]	全般	<i>Salmonella typhimurium</i> <i>Shigella sonnei</i> <i>Escherichia coli</i>	コーラ, サワーミックス (炭酸飲料の一種), ダイエットコーラ, ビール, ワイン, スキムミルク, 井戸水に $10^8$ cfu/ml の菌を接種し, $36^{\circ}\text{C}$ , 48 時間培養した。	<p><i>S. pyogenes</i> 接種試験</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• スポーツ飲料, 乳酸菌飲料では全サンプルで培養開始 5 時間後までに検出できなくなった。</li> <li>• 麦茶飲料では全サンプルで菌数に変化が見られなかった。</li> <li>• 紅茶飲料 (ミルクテイ) は培養開始 3 時間後から増殖を始め, 24 時間後には <math>10^4</math> 倍程度の増加を示した。</li> <li>• 同じカテゴリーの飲料でも種類によって菌数に大きな差が見られた。</li> </ul>
			コーラ, サワーミックス (炭酸飲料の一種), ダイエットコーラ, ビール, ワイン, スキムミルク, 井戸水に $10^8$ cfu/ml の菌を接種し, $36^{\circ}\text{C}$ , 48 時間培養した。	スキムミルクは培養開始 24 時間後にすべての菌種で $10^{10}$ cfu/ml に達した。ワインはすべての菌種で培養開始 4 時間後に生菌を検出できなくなった。炭酸飲料では培養開始後から直線的に減少して行き, 48 時間後にすべての菌種で生菌を検出できなくなった。

表 1: 清涼飲料水における細菌の動態に関する研究  
(茶系飲料, ミネラルウォーターを除く)

文献番号	飲料種別	細菌	実験方法	結果
[3]	リンゴジュース	<i>E. coli</i> O157:H7	リンゴジュースは pH が低い ため (pH3.3-4.4), 細菌が増殖 しにくいと考えられてきた。最 近では酸に耐性を示す <i>E. coli</i> O157:H7 が出現している。そ こで, 食品由来の <i>E. coli</i> 5 株をアッブルジュースに $10^6$ cfu/ml 接種, 21 日間の菌数を 測定した。	23 °C で培養を行った場合, 増殖することなく 7 日目で $10^{2.3}$ cfu/ml に減少し, 14 日目で検 出されなくなった。しかし, 4 °C で培養した場 合, 21 日目でも $10^{4.5}$ cfu/ml の菌が残存して いた。

表 1: 清涼飲料水における細菌の動態に関する研究  
(茶系飲料, ミネラルウォーターを除く)

文献番号	飲料種別	細菌	実験方法	結果
[4]	イチゴジュース	<i>E. coli</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	pH を調整したイチゴジュース (pH3.4-6.8) に食品由来の <i>E. coli</i> と <i>L. monocytogenes</i> をそれぞれ $10^{6.7}$ cfu/ml, $10^{7.3}$ cfu/ml 接種し, 3 日間菌数を測定した。	<i>E. coli</i> は 4 °C で培養した場合, 3 日目でもすべての pH で菌数をほとんど減少させることなく残存できた。37 °C で培養した場合, pH3.6 以下では増殖することがなく 3 日目に菌を検出できなくなったが, pH4.7 以上では培養 1 日目までは菌数が上昇し (pH6.8 の場合 $10^9$ cfu/ml), その後緩やかに菌数は減少して行った。 <i>L. monocytogenes</i> の場合でも, 4 °C では pH 域に関わらず, 菌数をほとんど変化させずに残存できた。37 °C の場合, pH3.6 以下では増殖せずに 3 日目には菌を検出できなくなったが, pH6.8 の場合は一時的な増殖のあと, 菌数は減少し 3 日目には検出できなくなった。

表 1: 清涼飲料水における細菌の動態に関する研究  
(茶系飲料, ミネラルウォーターを除く)

文献番号	飲料種別	細菌	実験方法	結果
[5]	リンゴジュース	<i>E. coli</i> O157:H7 <i>L. monocytogenes</i>	リンゴジュース (pH3.42 もしくは 4.00) および 40mM のパニリンを含むリンゴジュースに $10^5$ cfu/ml 接種し 14 日間, 4 °C もしくは 15 °C で培養した。	<i>E. coli</i> では培養温度, pH に関わらずパニリンを加えないと 14 日目でも $10^3$ から $10^4$ cfu/ml の菌が残存していたが, パニリンを加えると 1 日目には検出できなくなった。 <i>L. monocytogenes</i> ではすべてのサンプルで増殖せずに 14 日目には菌数が検出限界以下まで減少したが, パニリンを加えた pH4.0 のリンゴジュースでは 1 日目に検出限界以下まで減少した。
[6]	リンゴジュース	<i>E. coli</i> O157:H7 <i>S. typhimurium</i>	リンゴジュース (pH3.7±0.16) に <i>E. coli</i> O157:H7, もしくは <i>S. typhimurium</i> を $10^4$ cfu/ml 接種し, 5 °C および 20 °C で 14 日間培養した。	20 °C では <i>E. coli</i> , <i>S. typhimurium</i> は共に増殖せずに検出限界以下まで減少したが, 5 °C では <i>E. coli</i> で 10 cfu/ml, <i>S. typhimurium</i> で $10^{2-12}$ cfu/ml 残存していた。
[7]	リンゴジュース	<i>S. typhimurium</i> <i>E. coli</i> <i>L. monocytogenes</i>	保存料を含まないリンゴジュース (pH3.3-3.5) に $10^7$ cfu/ml 接種し, 4 °C もしくは 10 °C で 14 日間培養した。	<i>S. typhimurium</i> および <i>E. coli</i> は緩やかに減少して行ったが, いずれの温度においても 14 日目で約 $10^3$ cfu/ml の菌が残存していた。しかし, <i>L. monocytogenes</i> はいずれの温度においても 2 日目で, 検出されなくなった。

表 1: 清涼飲料水における細菌の動態に関する研究  
(茶系飲料, ミネラルウォーターを除く)

文献番号	飲料種別	細菌	実験方法	結果
[8]	オレンジジュース リンゴジュース	<i>E. coli</i> O157:H7	市販されているオレンジジュース 3 種類 (pH3.82-3.86), リンゴジュース 3 種類 (pH3.56-3.98) に $10^5$ cfu/ml 接種し, $5^\circ\text{C}$ もしくは $25^\circ\text{C}$ で 52 日間培養した。さらにこれらの飲料の D 値を測定した。	$5^\circ\text{C}$ で培養した場合, オレンジジュース, リンゴジュースいずれの場合も 42 日目まで $10^2$ から $10^4$ cfu/ml の菌が残存していたが, 56 日目にはすべてのサンプルから菌は検出されなくなった。 $25^\circ\text{C}$ で培養した場合, 菌は減少を続け, ほとんどのサンプルで 42 日目もしくは 56 日目に菌は検出されなくなった。しかし, 特定の 1 種類のオレンジジュースに接種した場合は 14 日目から菌が増殖を始め, 42 日目に $10^7$ cfu/ml に達した。あらかじめ酸性環境に順化させた <i>E. coli</i> の $D_{32^\circ\text{C}}$ の値はコントロールに比べて倍近く大きかった。

表 1: 清涼飲料水における細菌の動態に関する研究  
(茶系飲料, ミネラルウォーターを除く)

文献番号	飲料種別	細菌	実験方法	結果
[9]	パイナップルジュース パイナップルジュース アボガドジュース	<i>E. coli</i>	パイナップルジュース (pH3.57), パイナップルジュース (pH5.2), アボガドジュース (pH6.2) に <i>E. coli</i> O157:H7 を $10^3$ cfu/ml 接種し, 4 °C もしくは室温 (20-25 °C) で 120 時間培養した。	パイナップルジュースの場合, 4 °C, 室温いずれの場合でも菌数に変化は見られなかった。また, 飲料の pH にも変化は見られなかった。パイナップルジュースの場合, 室温で 96 時間後に $10^9$ cfu/ml まで増殖し, それに伴い pH も 5.2 から 4.5 に減少した。4 °C の場合, 48 時間後に $10^5$ cfu/ml まで増殖し, プラトーに達した。pH に大きな変化は見られなかった。アボガドジュースの場合, 室温で 72 時間後に $10^9$ cfu/ml まで増殖し, pH は 4.9 まで減少した。4 °C では緩やかに増殖し, 120 時間後に $10^8$ cfu/ml に達した。pH はほとんど変化しなかった。

表 1: 清涼飲料水における細菌の動態に関する研究  
(茶系飲料, ミネラルウォーターを除く)

文献番号	飲料種別	細菌	実験方法	結果
[10]	リンゴジュース	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> O157:H7 とコントロールの <i>E. coli</i> とで pH を調整した trypticase soy broth(TSB; pH1.0-12.0) およびリンゴジュースでの増殖を比較した。	O157:H7 は pH が 2.0 から 9.0 の TSB およびリンゴジュースで増殖することができた。コントロールの <i>E. coli</i> は pH4.0 から 9.0 の TSB で増殖することができた。しかし、リンゴジュースの中では増殖できなかった。コントロールの <i>E. coli</i> は保存料である 0.05% 安息香酸、ソルビン酸を加えると増殖が抑制されたが、O157:H7 の増殖を抑えるためにはこれらの保存料が 0.1% 必要であった。
[11]	バナナ オレンジ パイナップル ホ ワイトグレープ の各濃縮果汁	<i>E. coli</i> O157:H7 <i>L. monocytogenes</i> <i>Salmonella</i>	酸性環境に順化させた $10^3$ - $10^4$ cfu/ml の <i>E. coli</i> O157:H7, <i>L. monocytogenes</i> , <i>Salmonella</i> をそれぞれリンゴ (pH3.7), バナナ (pH5.5), オレンジ (pH3.7), パイナップル (pH3.6), ホワイトグレープ (pH3.6) の濃縮果汁に接種し, -23 °C で 12 週間保存した後, 菌数を測定した。	12 週間後にすべての飲料から, すべての菌種が分離された。

表 1: 清涼飲料水における細菌の動態に関する研究  
(茶系飲料, ミネラルウォーターを除く)

文献番号	飲料種別	細菌	実験方法	結果
[12]	濃縮オレンジ果汁	<i>Salmonella</i> Enteritidis	濃縮オレンジ果汁に接種し、-20°Cで12週間保管した後、菌数を測定した。	12週間後に約 $10^8$ cfu/mlの菌が回収された。
[13]	トマトジュース スキムミルク	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	$6 \times 10^8$ cfu/mlの <i>L. acidophilus</i> をスキムミルクもしくはスキムミルクにトマトジュースを6%加えたものに接種し37°C, 18時間培養した。	スキムミルクにトマトジュースを加えると、スキムミルク単独より約2から4倍増殖が良くなった。しかし、菌株によってトマトジュースによる増殖促進の効果が大きく異なっていた。
[14]	オレンジジュース リンゴジュース 非炭酸果汁含有飲料	<i>A. acidoterrestris</i>	フルーツジュースに100 cfu/mlの <i>A. acidoterrestris</i> を接種し菌数を測定した。	オレンジジュースの場合、4°C, 21日で $6 \times 10^2$ cfu/ml, 25°Cで6日目に $6 \times 10^6$ cfu/mlになった。りんごジュースでは4°C, 21日で100 cfu/ml以下, 25°Cで6日目に $6 \times 10^4$ cfu/mlになった。非炭酸の果汁含有飲料では4°C 13日目で60 cfu/ml, 25°Cで3日目に $10^5$ cfu/mlになった。また、約 $3 \times 10^5$ cfu/mlの生菌を接種したオレンジジュースを80°C, 10分加熱し、生菌を死滅させた後、44°Cで30時間培養し菌数を測定した。その結果、芽胞由来の菌が24時間で約 $10^6$ cfu/mlまで増殖した。

表 1: 清涼飲料水における細菌の動態に関する研究  
(茶系飲料, ミネラルウォーターを除く)

文献番号	飲料種別	細菌	実験方法	結果
[15]	オレインジジュース	<i>Salmonella</i>	カルシウム強化されたフルーツジュースが近年増加してきている。そこで、リン酸三カルシウム、乳酸カルシウム、クエン酸マレイン酸カルシウム、クエン酸カルシウムで強化されたオレインジジュースに <i>Salmonella</i> を接種し、4 °C、32 日後の菌の生存を調べた。	リン酸三カルシウムと乳酸カルシウムを組み合わせて添加されたオレインジジュース中では非添加のオレインジジュースに比べて菌の減少が促進された。クエン酸カルシウムもしくはリン酸三カルシウムを添加したオレインジジュース中では非添加のオレインジジュースより菌の減少が抑制された。クエン酸マレイン酸カルシウムは菌の減少に影響を与えなかった。また同じ <i>Salmonella</i> でも血清型によって酸性培養条件に対して感受性が異なることが明らかになった。
[16]	コーヒー 紅茶	<i>E. coli</i> O157:H7 <i>S. enterica</i> SV Enteritidis	66 cfu/ml の <i>E. coli</i> O157:H7 もしくは 44 cfu/ml の <i>S. enterica</i> SV Enteritidis をコーヒーもしくは紅茶を含む 30%FCS-50mM Tris-HCl, pH7.5 に接種し、37 °C、18 時間培養し菌数を測定した。	18 時間後、コントロールでは <i>E. coli</i> で $10^{3.6}$ cfu/ml, <i>S. enterica</i> で $10^{4.4}$ cfu/ml だったが、コーヒーもしくは紅茶を 5% 加えると両菌種とも $10^{8.5}$ cfu/ml まで上昇した。

表 1: 清涼飲料水における細菌の動態に関する研究  
(茶系飲料, ミネラルウォーターを除く)

文献番号	飲料種別	細菌	実験方法	結果
[17]	オレンジジュース	<i>A. acidoterrestris</i> <i>Lactobacillus sake</i> <i>Salmonella</i> (複数の血清型 の混合)	乳酸カルシウムで強化されたオ レンジジュース (pH3.6 もしく は 4.1) に $10^4$ - $10^5$ cfu/ml の菌 を接種し, 4 °C もしくは 10 °C で 7 週間培養した。	<i>A. acidoterrestris</i> は 10 °C, pH4.1 で約 $10^9$ cfu/ml まで増殖したが, 乳酸カルシウムを 10% 以上添加することによって増殖を抑制すること ができた。しかし, その場合でも菌数は $10^4$ cfu/ml を維持していた。4 °C の場合, もしくは 10 °C, pH3.6 の場合は増殖しなかったが $10^4$ cfu/ml を維持していた。 <i>L. sake</i> は pH3.6 の 場合と 4 °C, pH4.1 の場合, 速やかに死滅した。 しかし, 10 °C, pH3.6 の場合に 5-20% の乳酸 カルシウムを加えると約 $10^6$ - $10^7$ cfu/ml まで 増殖した。 <i>Salmonella</i> は 4 °C の場合と 10 °C, pH3.6 場合に死滅した。しかし 10 °C, pH4.1 の場合, 乳酸カルシウムを 20-30% を加えた場 合を除き $10^4$ cfu/ml 前後の菌数を維持した。

表 1: 清涼飲料水における細菌の動態に関する研究  
(茶系飲料, ミネラルウォーターを除く)

文献番号	飲料種別	細菌	実験方法	結果
[18]	リンゴ メロン イチゴ スイカ キャベツ ニンジン キュウリ レタス トマト の各ジュース	<i>Enterobacter sakazaki</i>	10-100 cfu/ml の <i>Enterobacter sakazaki</i> をリンゴ (pH3.9), メロン (pH6.8), イチゴ (pH3.7), スイカ (pH5.0), キャベツ (pH6.3), ニンジン (pH6.4), キュウリ (pH5.5), レタス (pH6.1), トマト (pH4.4) ジュースに接種し, 菌数を測定した。	4 °C でリンゴ, イチゴ, キャベツジュースでは緩やかに菌数が減少していき 168 時間後に検出限界以下となった。その他の飲料では接種時の菌数を維持していた。12 °C でメロン, スイカジュースの菌数は上昇していき 72 から 96 時間でプラトーに達した (メロンジュース 10 <sup>3</sup> cfu/ml; スイカジュース 10 <sup>4</sup> cfu/ml)。ニンジン, キュウリ, レタスジュースでは 96 時間後に約 10 <sup>2</sup> cfu/ml まで上昇したが, その後減少し 168 時間後には検出限界以下となった。他の飲料は培養開始後から緩やかに菌数が減少し, 168 時間後には検出限界以下となった。25 °C でリンゴ, イチゴ, キャベツジュースでは培養開始後速やかに菌数は減少し, 96 時間で検出限界以下となった。他の飲料では 24 から 48 時間後に 10 <sup>4</sup> -10 <sup>7</sup> cfu/ml まで菌数が上昇したが, 96 時間後には検出限界以下となった。

表 1: 清涼飲料水における細菌の動態に関する研究  
(茶系飲料, ミネラルウォーターを除く)

文献番号	飲料種別	細菌	実験方法	結果
[19]	濃縮クランベリー ジュース	<i>E. coli</i> O157:H7 <i>L. monocytogenes</i> <i>Salmonella</i>	糖度が 18 から 46 度の濃縮クランベリージュースにそれぞれ の菌を接種し, 菌数が $10^5$ 減少 するまでの時間を $0^\circ\text{C}$ で測定し た。各菌は 5 種類の菌株を用意 し, それぞれ酸性条件順応済み もしくは静止期の状態で接種し た。	糖度が 18 から 46 度の場合 (pH2.2-2.5), すべ でのバクテリアが 6 時間もしくは 24 時間で $10^5$ 減少した。糖度 14 度の場合 (pH2.5), <i>L.</i> <i>monocytogenes</i> と <i>Salmonella</i> が $10^5$ を超え る減少を示した。すべての細菌において酸性条 件に順応したものでより静止期の株が長時間残 存していた。最も耐性だったのは静止期の <i>E.</i> <i>coli</i> O157:H7 で, 最も感受性が高かったのが 酸性順応済みの <i>L. monocytogenes</i> だった。細 菌は糖度が高くなるにつれて不活化される傾向 が強まった。

表 2: 茶系飲料における細菌の動態に関する研究

文献番号	飲料種別	細菌	実験方法	結果
[20]	紅茶	メチシリン耐性ブドウ球菌 (MRSA)	茶葉を PBS に 3 時間浸して得た紅茶エキスを最終濃度 2.5% 含む Mueller-Hinton broth に MRSA を $10^4$ cfu/ml 接種し、 $37^\circ\text{C}$ 24 時間培養後の菌数を測定した。	コントロールでは約 $10^9$ cfu/ml まで菌数が増加したが、紅茶エキスを含む培地で培養すると 24 時間後に菌数は検出限界以下まで低下した。
[21]	日本茶	細菌性下痢起病菌 24 菌種	<i>Staphylococcus</i> 属, <i>Salmonella</i> 属, <i>Escherichia</i> 属, <i>Yersinia</i> 属, <i>Vibrio</i> 属, <i>Aeromonas</i> 属, <i>Pseudomonas</i> 属に対する日本茶の抗菌、殺菌作用をディスク法を用いて検討した。	全体的に玉露, 煎茶, 番茶に抗菌力が強く認められたが, ほうじ茶, 抹茶にも弱いながら抗菌力が認められた。しかし, 菌種によって感受性はかなり異なっていた。特に腸管進入性大腸菌, 腸管出血性大腸菌, 腸管病原性大腸菌, 毒素源性大腸菌, <i>E. cloacae</i> , <i>Y. enterocolitica</i> , <i>V. fluvialis</i> , <i>A. sobria</i> , <i>A. hydrophila</i> はすべてのお茶に対して感受性を示さなかった。

表 2: 茶系飲料における細菌の動態に関する研究

文献番号	飲料種別	細菌	実験方法	結果
[22]	ペットボトル入り茶系飲料	<i>E. coli</i>	通常の緑茶, 市販のペットボトル入り緑茶, 市販のペットボトル入り紅茶, 番茶, カテキン抽出物をそれぞれ一般的にお茶を飲用する時の濃度になるようにLB 液体培地と混和したものに <i>E. coli</i> O157 を接種し 37 °C で培養した。	各培地の総カテキン量 (mg/100ml) は緑茶 221.5, ペットボトル入り緑茶 28.5, ペットボトル入り紅茶 25.5, 番茶 19.2, カテキン抽出物 18.3 だった。この様にペットボトル入りの緑茶と家庭で飲まれる通常の緑茶とではカテキン含量に差があることが明らかになった。茶系飲料含有培地では菌の増殖が抑制された。また茶系飲料含有培地ではペロ毒素 1 型の産生が抑制された。
[23]	緑茶	<i>S. mutans</i> <i>S. sobrinus</i>	緑茶熱抽出物を含む寒天平板上における <i>S. mutans</i> と <i>S. sobrinus</i> の増殖を調べた。	2 mg/ml 以上の濃度で緑茶抽出物は菌の増殖を有意に抑えた。その効果は <i>S. sobrinus</i> に対してより明確であった。また、接種菌数を増加させると緑茶抽出物の効果は著しく減少した。
[24]	緑茶	腸管出血性大腸菌 (EHEC)	緑茶由来カテキン類が EHEC のペロ毒素産生性に及ぼす影響を調べた。	0.05 mg/ml 以上の濃度で epigallocatechin と allocatchin gallate が細胞外へのペロ毒素の分泌を抑制した。