PET ボトル入り清涼飲料水の直接飲用でボトル内に混入した口腔内常在菌の消長

小林麻里子・奥脇 義行・川井 英雄

(女子栄養大学)

Survival of mixed oral bacterial flora in PET bottled soft drinks by drinking directly

Mariko Kobayashi, Yoshiyuki Okuwaki, Hideo Kawai

Kagawa Nutrition University, 3-9-21, Chiyoda, Sakado-shi, Saitama, 350-0288, Japan

〒350-0288 埼玉県坂戸市千代田 3-9-21

The small capacity PET bottle for soft drinks were developed in 1996. The production of bottled soft drinks was 18,000,000kL in 2003. The PET bottled drinks accounts for 56% of the market, which the 500mL container accounts has a 36.4% share. The 500mL PET bottled soft drinks is easy to carry. There are many people who directly drink from bottles and carry them for a long time. This suggested that this might cause some problems involving bacteriology. The results were as follows. Various kinds of oral bacterial flora because mixed in the bottled soft drinks by the direct drinking, but these bacteria decreased with time. Most bacteria mixed in the green tea and oolong tea drinks quickly decreased and were not detected after an 8 hours storage at 25°C. Some bacteria mixed in fruit juice, sport drinks and barley tea drinks slowly decreased and were detected after 8 hours at 25°C. The bacteria detected after 8 hours were *Genus Staphylococcus* and *Genus Streptococcus* mainly. As written on the label of the bottle, it is important to drink them as soon as possible after opening them.

緒 言

1996年4月より国産小容量PETボトル入り清涼飲料水の販売が解除され、これにより各種飲料の飲用オケーションが広がり、消費量が大幅に増加した¹⁾。2003年における清涼飲料水の生産量約1,800万kLの容器別内訳ではPETボトル入り清涼飲料水（以下、PET飲料という）が56%のシェアを占め、これに次ぐスティール缶の19%を大きく引き離している²⁾。また、PET飲料の内訳では61.6%を2L入り、500mLが36.4%を占めている¹⁾。国産小容量PET飲料の販売が解除された1996年を境に缶詰飲料は生産量の減少が続く、代わりにPET飲料は増加を続けてきた。これは、缶と違って開封しても再栓ができ、随時飲むことができるというPET飲料の利点、中でも500mL PET飲料の手軽さにあると考えられる。

昨今、500mLのPET飲料を飲みかけの状態で長時間持ち歩き飲用している人を多く見かけるが、このような

ことが食品衛生上問題がないかということの細菌学的な研究を行った。

実験方法

1. 試 料

市販のPET飲料のうち、20～30%果汁飲料7銘柄7試料、緑茶飲料、むぎ茶飲料、スポーツ飲料各5銘柄5試料、ウーロン茶飲料、紅茶飲料各4銘柄4試料を試料とした。以上30試料はすべて国産品である。各試料は2003～2004年に主に埼玉県坂戸市内、および東京都渋谷区内の小売店で購入した。

2. 方 法

1) 飲用方法

全PET飲料から5秒間1回直接飲用し、ペットボトル内に残った飲料を飲用直後の試料とした。試料は保存試験に供するにあたって、試料サイズ不足を補うため二系列とし、一系列は開封直後、飲用直後、1、2時間保存用、二系列目は飲用直後、4、8時間保存用に供し、

飲用試験は全30試料を一人の被検者で行った。

2) 保存試験

(1) 飲用直後の試料を、25℃（クールインキューター：(株)井内盛栄堂）で一系列目の試料は1時間後、2時間後、二系列目の試料は4時間後、8時間の保存後に試料を採取し、保存試験液とした。

(2) メンブランフィルター法による生菌数測定：開封直後、飲用直後の試料、および保存試験液各100mLをメンブランフィルター（Plastic Filter Holders：Schleicher & Schuell、メンブランフィルター：MFTM-Membrane Filters Filter Type 0.45 μm HA）で吸引ろ過後、メンブランフィルターを標準寒天培地（栄研器材(株)製）上で37℃、24時間培養し生菌数を測定した。

同一保存試験液の一系列目と二系列目の菌数差については、飲用直後の生菌数を100として、二系列間の菌数差を補正し Fig.1～Fig.6 に示した。

3) 同定方法

メンブランフィルター上に発育したコロニーを標準寒天培地で分離培養したのち、性状（形状・色）の異なる

コロニーをグラム染色した。グラム陽性および陰性の桿菌と球菌に分類し、Table.1 に示した判定方法を用いて属レベルでの同定を行った。マンニット食塩寒天培地、OF 培地、4℃における標準寒天培地への発育、DNase は成書³⁾、コアグラゼテスト、カタラーゼテスト、オキシダーゼテストは栄研化学(株)製、api10S, api20NE は日本バイオメリュー(株)製のキットに従った。

結 果

PET 飲料からの直接飲用により、口腔内に常在するさまざまな細菌がボトル内に混入したが、全ての試料において25℃に保存することによって生菌数は減少した。

1. 生菌数の変動

ウーロン茶飲料は減少が急速であり、二系列のうち、一系列目は飲用直後には100cfu/100mLであったが、飲用1時間後で14cfu/100mL、2時間後で6cfu/100mLとなった。もう一方の二系列目は、飲用直後に32cfu/100mLであったが、4時間後には生菌を認めなくなった (Fig.1)。ウーロン茶飲料は全試料で8時間後に生菌

Table.1 Identification test of detected bacteria

Gram positive cocci

	Catalase test	Coagulase test	Mannitol salt agar	Oxidation fermentation basal medium
			Growth	Change yellow
<i>Genus Staphylococcus</i>	+	<i>S.aureus</i> +	+	+
<i>Genus Micrococcus</i>	+		+	+ after 48 hour
<i>Genus Streptococcus</i>	-	-	-	-
<i>Genus Enterococcus</i>	-		+	+

Fermentation type (F)
Oxidation type (O)

Gram positive bacilli

	Catalase test	Growth of plate count agar on 4℃	Spore
<i>Genus Listeria</i>	+	+	
<i>Genus Bacillus</i>	+		+
<i>Genus Corynebacterium</i>	+	-	
<i>Genus Lactobacillus</i>	-		

Gram negative cocci

	Oxidase test	Dnase
<i>Genus Neisseria of non pathogens</i>	+	-
<i>Genus Moraxella</i>	+	+
<i>Genus Acinetobacter</i>	-	

Gram negative bacilli

	Oxidase test	
<i>Enterobacteriaceae</i>	-	api10S
<i>Glucose non-fermentation bacteria</i>	+	api20NE

Fig.1 Survival of viable cell counts in oolong tea (aerobic incubation)

Fig.2 Survival of viable cell counts in green tea (aerobic incubation)

を認めなかった。緑茶飲料もこれと同様の傾向であった (Fig.2)。

むぎ茶飲料は減少が緩慢であり、一系列目は飲用直後に26cfu/100mLであったのが1時間後で17cfu/100mLになり、2時間後には11cfu/100mLと半数程度となった。もう一方の二系列目では、飲用直後157cfu/100mLであったのが、4時間後に83cfu/100mL、8時間後には24cfu/100mLとなった (Fig.3)。むぎ茶飲料は全試料で8時間後にも生菌を認め、果汁飲料、スポーツ飲料、紅茶飲料も同様の傾向であった (Fig.4~6)。

2. 検出菌相の変動

検出された細菌の属レベルでの同定結果を Table.2~7 に示した。

ウーロン茶飲料では一系列目は飲料直後に *Staphylococcus* 属, *Lactobacillus* 属, *Bacillus* 属, *Streptococcus* 属, *Neisseria* 属が検出されたが、飲用1時間後に *Lactobacillus* 属, *Neisseria* 属が見られなくなり、2時間後には *Staphylococcus* 属のみとなった。もう一方の二系列目では、飲用直後に *Staphylococcus* 属, *Lactobacillus* 属, *Bacillus* 属が検出されたが、4時間後に細菌は認められなくなった (Table.2)。緑茶飲料も同様の傾向を示した

Fig.3 Survival of viable cell counts in barley tea (aerobic incubation)

Fig.4 Survival of viable cell counts in fruits drink (aerobic incubation)

Fig.5 Survival of viable cell counts in sports drink (aerobic incubation)

Fig.6 Survival of viable cell counts in black tea (aerobic incubation)
sampleA・B : black tea with sugar. sampleC・D : black tea with sugar and lemon.

Table.2 The number of detected bacteria in oolong tea (aerobic incubationy)

sample	sample A							sample B							sample C							sample D						
Time (hour)	Immediately after opening							Immediately after opening							Immediately after opening							Immediately after opening						
Detected bacteria	0	1	2	0	4	8		0	1	2	0	4	8		0	1	2	0	4	8		0	1	2	0	4	8	
<i>Genus Staphylococcus</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	
<i>Genus Lactobacillus</i>	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
<i>Genus Bacillus</i>	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	
<i>Genus Streptococcus</i>	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	
<i>Genus Neisseria</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	
<i>Yeast</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Genus Acinetobacter</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	

Table.3 The number of detected bacteria in green tea (aerobic incubationy)

sample	sample A							sample B							sample C							sample D							sample E										
Time (hour)	Immediately after opening	0	1	2	0	4	8	Immediately after opening	0	1	2	0	4	8	Immediately after opening	0	1	2	0	4	8	Immediately after opening	0	1	2	0	4	8	Immediately after opening	0	1	2	0	4	8				
Detected bacteria																																							
<i>Genus Staphylococcus</i>	-		+	+	+	+	-	-		+	+	+	+	+	-		+	+	+	+	+	-	-		+	+	+	+	+	+	+	-		+	+	+	+	+	-
<i>Genus Acinetobacter</i>	-		-	-	-	+	-	-		-	-	-	-	-	-		-	+	+	+	+	-	+		+	+	+	+	+	-		+	+	+	+	+	-		
<i>Genus Stenotrophomonas</i>	-		-	-	-	+	-	-		-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-		
<i>Genus Bacillus</i>	-		-	-	-	-	-	-		-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+		+	+	+	+	+	-		-	-	-	-	-	-	-	
<i>Genus Lactobacillus</i>	-		+	-	-	+	+	-		-	+	-	-	+	-		-	-	-	-	+	-	-		+	+	+	+	+	-		-	+	+	-	+	-	-	
<i>Genus Micrococcus</i>	+		+	+	+	-	-	-		-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-		
<i>Genus Streptococcus</i>	-		+	+	+	+	+	-		-	+	+	+	+	+	-		+	+	+	+	+	-		+	+	+	+	+	+	-		+	+	+	+	+	-	
<i>Genus Moraxella</i>	-		-	-	+	+	-	-		-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-		
<i>Genus Enterobacter</i>	-		-	-	-	+	-	-		-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-		
<i>Yeast</i>	-		-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-		-	+	-	-	-	-	-		-	+	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-		
<i>Genus Klebsiella</i>	-		-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	+	-	-		-	-	-	+	-	-		-	-	-	-	-	-		
<i>Genus Neisseria</i>	-		-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	+	-		

(Table.3)。

むぎ茶飲料では一列目は飲用直後に *Staphylococcus* 属, *Neisseria* 属, 酵母, *Streptococcus* 属, *Bacillus* 属が検出され, 1 時間後でも菌相に変動はなかった。2 時間後には *Streptococcus* 属, *Bacillus* 属は認められなくなった。もう一方の二系列目では, 飲用直後には *Staphylococcus* 属, *Neisseria* 属, *Acinetobacter* 属, *Streptococcus* 属が検出された。飲用 4 時間後には *Staphylococcus* 属, *Neisseria* 属, *Streptococcus* 属が検出されたが, 8 時間後には *Staphylococcus* 属, *Streptococcus* 属のみとなった (Table.4)。また, 果汁飲料, スポーツ飲料, 紅茶飲料も同様の傾向であった (Table.5~7)。

以上の結果より, *Staphylococcus* 属菌は, 生菌数の減少傾向が急速であるウーロン茶飲料や緑茶飲料でも生残していることが多く, また, 減少が緩慢なむぎ茶飲料, 果汁飲料などでは 8 時間後でも生残していた。*Streptococcus* 属菌はむぎ茶飲料や果汁飲料などでは 8 時間後にも検出されたことから, この 2 菌種は PET ボトル入りの清涼飲料水で生残が可能であった。

考 察

口腔内には数多くの微生物が生息しており, 総菌数は唾液で $10^9/\text{mL}$ に達する。おもな菌種としては, α -, γ -*Streptococcus* 属, 非病原性 *Neisseria* 属, *Staphylococcus* 属, *Micrococcus* 属, *Lactobacillus* 属, 腸内細菌属, 酵母様真菌などがあげられる³⁾。

PET 飲料の直接飲用により口腔内に常在するさまざまな細菌が混入したが, 全ての試料において保存により生菌数は減少し, 試料の違いにより減少率に差がみられた。また, 菌種によって混入後速やかに死滅する菌種と, 長時間の生息が可能なものという違いがみられた。

生菌数の変動の面からでは, 抗菌性をもつと言われていた緑茶飲料, ウーロン茶飲料では減少が急速であり, 8 時間後に生菌を認めた試料はなかった。緑茶飲料, ウーロン茶飲料, 紅茶飲料はすべて同じお茶の木の子葉から作られており, 加工方法によって異なった茶葉になる。紅茶飲料は砂糖を含むものを使用したため生菌数の減少は緩やかであったが, 緑茶飲料とウーロン茶飲料は同様の

Table.4 The number of detected bacteria in barley tea (aerobic incubationy)

sample	sample A							sample B							sample C							sample D							sample E						
Time (hour)	Immediately after opening	0	1	2	0	4	8	Immediately after opening	0	1	2	0	4	8	Immediately after opening	0	1	2	0	4	8	Immediately after opening	0	1	2	0	4	8	Immediately after opening	0	1	2	0	4	8
Detected bacteria																																			
<i>Genus Bacillus</i>	–	+	+	+	–	+	–	–	+	+	+	+	+	+	–	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Genus Staphylococcus</i>	–	+	+	+	–	+	–	–	–	–	+	–	–	–	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Genus Streptococcus</i>	–	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Genus Acinetobacter</i>	–	+	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Genus Neisseria</i>	–	+	+	+	+	+	+	–	–	+	+	+	+	–	–	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Genus Stenotrophomonas</i>	–	+	–	–	+	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Yeast</i>	–	–	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Genus Micrococcus</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

PET ボトル入り清涼飲料水の直接飲用でボトル内に混入した口腔内常在菌の消長

Table.5 The number of detected bacteria in fruits drink (aerobic incubationy)

sample	sample A							sample B							sample C							sample D							sample E						
Time (hour)	Immediately after opening	0	1	2	0	4	8	Immediately after opening	0	1	2	0	4	8	Immediately after opening	0	1	2	0	4	8	Immediately after opening	0	1	2	0	4	8	Immediately after opening	0	1	2	0	4	8
Detected bacteria																																			
<i>Genus Staphylococcus</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	
<i>Genus Neisseria</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Genus Micrococcus</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Genus Bacillus</i>	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Genus Lactobacillus</i>	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Genus Streptococcus</i>	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Genus Corynebacterium</i>	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Genus Acinetobacter</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-
<i>Genus Pseudomonas</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Genus Flavobacterium</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Genus Stenotrophomonas</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Yeast</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

sample	sample F							sample G						
Time (hour)	Immediately after opening	0	1	2	0	4	8	Immediately after opening	0	1	2	0	4	8
Detected bacteria														
<i>Genus Staphylococcus</i>	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+
<i>Genus Neisseria</i>	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-
<i>Genus Micrococcus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Genus Bacillus</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>Genus Lactobacillus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Genus Streptococcus</i>	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-
<i>Genus Corynebacterium</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>Genus Acinetobacter</i>	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-
<i>Genus Pseudomonas</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Genus Flavobacterium</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Genus Stenotrophomonas</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
<i>Yeast</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-

Table.6 The number of detected bacteria in sports drink (aerobic incubationy)

sample	sample A							sample B							sample C							sample D							sample E						
Time (hour)	Immediately after opening							Immediately after opening							Immediately after opening							Immediately after opening							Immediately after opening						
Detected bacteria	0	1	2	0	4	8		0	1	2	0	4	8		0	1	2	0	4	8		0	1	2	0	4	8		0	1	2	0	4	8	
<i>Genus Staphylococcus</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
<i>Genus Neisseria</i>	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-
<i>Genus Streptococcus</i>	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
<i>Genus Lactobacillus</i>	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Yeast</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Genus Bacillus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
<i>Genus Agrobacterium</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Genus Corynebacterium</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Genus Acinetobacter</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Genus Ochrobacterium</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Table.7 The number of detected bacteria in black tea (aerobic incubationy)

sample	sample A*							sample B*							sample C**							sample D**						
Time (hour)	Immediately after opening	0	1	2	0	4	8	Immediately after opening	0	1	2	0	4	8	Immediately after opening	0	1	2	0	4	8	Immediately after opening	0	1	2	0	4	8
Detected bacteria																												
<i>Genus Staphylococcus</i>	–	+	+	+	+	+	–	–	+	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+	+
<i>Genus Lactobacillus</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Genus Bacillus</i>	–	+	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Genus Streptococcus</i>	–	+	+	–	+	–	–	–	+	+	+	+	+	–	–	+	+	–	+	–	–	–	+	+	+	+	–	–
<i>Genus Neisseria</i>	–	+	+	–	–	–	–	–	+	–	–	+	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	+	+	–	–	–	–
<i>Yeast</i>	–	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Genus Acinetobacter</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Genus Micrococcus</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	+	–	–	–	–	+	+	+	+	–
<i>Genus Corynebacterium</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–

* : black tea with sugar. ** : black with sugar and lemon

傾向を示した。緑茶飲料やウーロン茶飲料の抗菌性はカテキンによるもので、食中毒の原因となる *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus* (以下 *S.aureus*) *Clostridium botulinum*, *Vi-brio cholerae*⁴⁾, *Escherichia coli* O157 : H 7 (以下 *E.coli* O157) などに対して抗菌性をもつ^{4),5)}とされている。

大久保ら^{6),7)}は、緑茶飲料中に *E.coli* O157 を接種し一定時間後に形成されるコロニー数を観察し、5 時間後には *E.coli* O157 は死滅したと報告している。さらに、カテキンが細菌の細胞膜を破壊することも確認しており、*E.coli* O157 に対する殺菌作用もこれと同じメカニズムが考えられるとしている。

果汁飲料, スポーツ飲料, むぎ茶飲料では生菌の減少傾向が緩慢であり, 8時間後でも多くの生菌が認められた。果汁飲料には糖や有機酸が, スポーツ飲料には糖やアミノ酸が多く含まれているため, これらが細菌の生残を支持し減少を緩やかにしていると考えられる。*S.aureus* をセリン, スレオニン, アルギニン, アスパラギン酸ナトリウム, システイン塩酸塩含有生理食塩水に接種した場合とアミノ酸無添加のものに接種した場合とを比較した研究⁸⁾では, 無添加試料中では接種4日後で死滅した。それに対しアミノ酸含有のものでは6日後でもほとんど菌数の減少は見られず, またアミノ酸含有量が少なくなるほど菌数の減少速度は速くなったとしている。本報告による知見は上記の結果とよく一致している。

本実験に用いた紅茶飲料は砂糖を含むものであったが, 果汁飲料のような緩やかな減少傾向は示さなかった。これは, 紅茶は緑茶やウーロン茶と同じ茶葉であるため, これらと同様にカテキンが影響をしたと考えられる。

むぎ茶飲料の原料である大麦は, デンプンを主体とした糖質を74%, タンパク質を10%含んでいる。糖質, タンパク質ともに細菌の栄養源となりうる成分である。またむぎ茶飲料のpHは中性付近(pH6.4~6.6)であるため, 酸性付近(pH3.2~3.8)の果汁飲料やスポーツ飲料と比較して, より細菌の生存に適した環境であるといえる。

本研究は1回の開栓・飲用後にボトル内に混入した細菌に関する検討である。通常は複数回の開栓・飲用があるので, 本研究のデータよりも細菌の生残は多くなるものと考えられる。従って, 特にむぎ茶飲料では1回の直接飲用で混入した細菌が長時間にわたって検出されたことから, 飲みかけの状態で長時間持ち歩き飲用することにおいては注意が必要である。また, 日常見受けられる直接飲用では持ち歩き時間は1日が多く, 直接飲用後の飲料を数日間保存し飲用するということは少ないため, 保存時間は8時間後までしか行っていない。しかし, 保存時間が1週間ほどの長期に渡るとたとえ冷蔵庫に入れていても危険性が増加すると考えられる。

菌相の変動を見ると, 飲用直後では口腔内に常在する多種多様の細菌の混入が見られた。8時間後に検出された細菌は *Staphylococcus* 属菌と *Streptococcus* 属菌であった。この2菌種は基本的には栄養要求性が高くないため, 清涼飲料水中でも長時間の生存が可能であったと考えられた。

要 約

1996年より国産小容量PET飲料の販売が解除された。

2003年における清涼飲料水生産量1,800万kLのうちPET飲料は56%のシェアを占め, その内の36.4%を500mLが占めている。500mL PET飲料が短期間でこれほど普及したのは, 小容量PET飲料は, 缶と違って再栓ができるという利点から, 飲みかけの状態で長時間持ち歩くことが何らかの問題を生じないか, ということを細菌学的観点から検討する研究を行った。

- ① PET飲料からの直接飲用により, 口腔内に常在する様々な細菌が混入したが, 時間経過とともに減少した。
- ② 特に, 抗菌性をもつと言われている緑茶飲料, ウーロン茶飲料では減少が急速であり, 8時間保存後に生菌は認めなかった。
- ③ 糖類を含む果汁飲料, アミノ酸を含むスポーツ飲料, デンプンを含むむぎ茶飲料では減少が緩慢であり, 8時間保存後でも生菌が多く認められた。
- ④ 通常は複数回の開栓・飲用があり, その都度細菌の暴露を受けるので, 生残は多くなるものと考えられる。従って, 特にむぎ茶飲料を飲みかけの状態でも長時間持ち歩き飲用することにおいては注意が必要である。
- ⑤ *Staphylococcus* 属菌は生菌数の減少が急速なウーロン茶飲料や緑茶飲料でも生残しており, 減少が緩慢なむぎ茶飲料などでは *Streptococcus* 属菌も検出された。

文 献

- 1) サントリー株式会社: <http://www.suntory.co.jp/>
- 2) 日本ミネラルウォーター協会: <http://www.minekyo.jp/>
- 3) 岡田 淳, 中村良子, 設楽政次, 宮治 誠, 伊藤 武, 山根誠久, 長沢光章, 奥脇義行, 渡邊邦友: 臨床検査講座微生物学/臨床微生物学, 医歯薬出版 (2001)
- 4) Toda, M., Okubo, S., Ohnishi, R., Shimamura, T., :Antibacterial and bactericidal activities of Japanese green tea, 日本細菌学雑誌, 44(4), 669-672 (1989)
- 5) 大久保幸枝, 佐々木武二, 原 征彦, 森 扶美代, 島村忠勝: 腸管出血性大腸菌 O157 : H 7 に対する Catechin の殺菌作用および抗毒素作用, 感染症学雑誌, 72(3), 211-217 (1998)
- 6) Okubo, S., Sasaki, T., Hara, Y., Mori, F., Shimamura, T., :Bactericidal and anti-toxin activities of catechin on enterohaemorrhagic *Escherichia coli*, 感染症学雑誌, 72(3), 211-217 (1998)
- 7) Kigai, H., Nakae, T., Hara, Y., Shimamura, T., :Bactericidal catechins damage the lipid bilayer, Biochimica et Biophysica Acta, 1147(1), 132-136 (1993)
- 8) 牛嶋 彊: *Staphylococcus aureus* の生理食塩水中での自発死を抑制するに要するアミノ酸量, 医学と生物学, 118(4), 283-286 (1989)