開栓したペットボトル入り清涼飲料水における微生物の増殖挙動

誌名	食品衛生学雑誌
ISSN	00156426
著者名	後藤,慶一 廣瀬,昭博 折笠,旦継 佐藤,瑛吏 尾入,且基 久保田,かおり 井上,瑠奈 中山,素一
発行元	日本食品衛生学会
巻/号	61巻5号
巻号補足	
掲載ページ	p. 200-205
発行年月	2020年10月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council Secretariat

AgriKnowledge

調査・資料

開栓したペットボトル入り清涼飲料水における微生物の増殖挙動

後藤慶一*[1] 廣瀬昭博[1] 折笠旦継[1] 佐藤瑛吏[1]
尾入且基[1] 久保田かおり[1] 井上瑠奈[2] 中山素一[2]

Evaluation of Microbial Spoilage in PET Bottled Soft Drinks by Direct Drinking

Keiichi GOTO*[1], Akihiro HIROSE[1], Akitsu ORIKASA[1], Eiri SATO[1],
Katsuki OIRI[1], Kaori KUBOTA[1], Runa INOUE[2] and Motokazu NAKAYAMA[2]

[1] Tokai University: 3–20–1 Orido, Shimizu-ku, Shizuoka 424–8610, Japan;
[2] Kyushu Sangyo University: 2–3–1 Matsukadai, Higashi-ku, Fukuoka 813–8503, Japan;
* Corresponding author

In order to evaluate microbial growth in opened PET bottled soft drinks, inoculation tests were carried out using type and reference strains of various microorganisms. Microorganisms were inoculated into a 500 mL PET bottle containing 250 mL of various soft drinks followed by incubation until 1 week at 4, 25, 35℃ without shaking, and 35℃ with shaking. The microbial counts were measured over time and compared with the results of the previous study "Studies on Contaminants in Soft Drink"[2)-4)]. As a result, similar growth patterns were observed in the combination of tomato juice with *Lactobacillus fermentum*, sports drink with *Candida albicans*, and mineral water with *Klebsiella pneumoniae*. However, in green tea, mixed herb tea, orange juice and coffee with milk, the growth of microorganisms generally tended to be weaker than those of the previous studies. It was considered that components in the soft drinks inhibited the growth of the microorganisms. From the above results, the proliferative properties of type and reference strains in soft drinks were clearly different from the spoiled soft drinks isolates. The results in this study indicated that attention must be paid in the safety evaluation.

(Received May 4, 2020; Accepted August 14, 2020)

Key words: 清涼飲料水 soft drink; ペットボトル PET bottle; 腐敗 spoilage; 口飲み direct drinking; 飲み残しペットボトル PET bottle with leftover

緒　言

1996年に国産小容量ペットボトル飲料の販売が解禁されると，既存の缶や瓶詰飲料に代ってペットボトル飲料の生産量が急増し，僅か数年でトップシェアとなった．この理由として，ペットボトルは再栓でき，随時飲むことのできるという点が挙げられる．(社)全国清涼飲料連合会の統計によれば，年間1人当たり180 Lの清涼飲料水を消費しているが，その約75%はペットボトル飲料で，今やわれわれの生活に欠くことはできない．そのようななか，消費者から自治体やメーカーに来信する苦情も後を絶たず，2008年の調査では，苦情の過半数はペットボトル飲料であり，開栓後の微生物によるものが多いと報告されている[1)]．その背景には多様な形態や種類の清涼飲料水が販売され，また製造，流通，保管や消費の方法が多岐にわたること，さらにペットボトル飲料が普及したことで開栓後の持ち運びや保存が容易になったことがあり，各過程での一様な管理や基準の設定が難しく，結果として清涼飲料水に微生物が混入・増殖するといった苦情発生につながっている．このようなことから，2008より2010年度にかけて，厚生労働省の食品の安心・安全確保推進研究事業において，「清涼飲料水中の汚染原因物質に関する研究」が取り組まれた（以降，本研究を先行研究と称す）[2)~4)]．当該研究では，清涼飲料水に関する諸問題を整理し，安全に製品が消費者に提供・消費されるための要点の提示を目的として，口飲みした16種類の清涼飲料水中の微生物増殖の解析，また，清涼飲料水についての消費者からの苦情等を地

* 連絡先 kgoto@tsc.u-tokai.ac.jp
[1] 東海大学：〒424–8610 静岡市清水区折戸3–20–1
[2] 九州産業大学：〒813–8503 福岡市東区松香台2–3–1

*[1] 神田隆ほか：第100回日本食品衛生学会講演要旨集，p. 58 (2010)．
*[2] 後藤慶一ほか：日本清涼飲料研究会 第20回研究発表会講演集，p. 33–38 (2010)．
*[3] 大西貴弘ほか：第31回日本食品微生物学会学術総会講演要旨集，p. 103 (2010)．
*[4] 富田敦子ほか：第102回日本食品衛生学会講演要旨集，p. 63 (2011)．

方自治体および製造業者から収集し，原因微生物の解析および原因要因の解析が行われた[1)~6), *1~*4]．これらの研究により，開栓後の清涼飲料水の腐敗に関与する微生物の種類や，およその腐敗までの期間や腐敗しやすい温度が明らかにされた．しかしながら，供試菌株はいずれも当該研究者らが腐敗した清涼飲料水から分離した菌株を使用した試験であり，同一の菌株を用いてメーカーなどの他者がチャレンジテストで評価（例えば開栓後の微生物汚染を想定した製品中の微生物増殖性評価など）を行うことができない．そこで筆者らは，一般的に入手可能な公的機関からの分譲菌株（標準菌株）を用いて，過去の知見と同様の微生物増殖性が確認できるのかを評価するため，開栓後の清涼飲料水を想定した接種試験を行ったので報告する．

実験方法

1. 口飲みによる微生物の移行調査

清涼飲料水に接種する菌数決定の一助とするため，ペットボトルに口をつけて飲用した場合，微生物がどの程度移行するかを以下の手順で調査した．

無菌であることを事前に確認したペットボトル入りミネラルウォーター（500 mL容量）と同一ロットの10本について，10人の被験者に口をつけて飲用させた．飲用の条件として，所要時間は3分，口をつける回数は10回程度，飲用量は約250 mLとした．回収したペットボトル中の残液について，リン酸緩衝液（3M）を用いて10倍希釈系列を作製し，一般生菌数は標準寒天培地（日水製薬）を用いて35℃・48時間好気培養，大腸菌群数はX-MG寒天培地（日水製薬）を用いて35℃・20時間好気培養，および真菌数はクロラムフェニコール加PDA培地（日水製薬）を用いて30℃・7日間好気培養し，生じたコロニー数を測定した．微生物の死滅あるいは増殖の影響をできるだけ抑えるため，残液を回収して30分以内に試験を実施した．なお，本調査は東海大学「人を対象とする研究」に関する倫理委員会の承認を得て実施した（承認番号19194）．

2. 清涼飲料水への接種試験

開栓後の清涼飲料水中での微生物の挙動，また外観の変化を確認するため，複数種のペットボトル飲料を用いて接種試験を実施した．

2.1 清涼飲料水と供試菌株

試験に用いた清涼飲料水および供試菌株をTable 1に示した．清涼飲料水と微生物種は，先行研究の結果をもとに，分離頻度が高い菌種の基準株，またはよく用いられている標準菌株を選定した．しかし，予備実験として行った各種清涼飲料水に1.5%の寒天を加えて作製した飲料寒天培地上での被検菌株の増殖性調査の結果，コロニー形成が確認されなかった組み合わせや，清涼飲料水に接種して1桁以上の増殖が確認されなかった組み合わせがあったため，製品や微生物種を一部追加・変更した．なお，麦茶については先行研究で実施していないが，腐敗報告が少なくないことから評価に加えた．

Table 1. Soft drinks and strains used in this study

Soft drinks	Strains
Green tea	*Pantoea agglomerans* NBRC 102470^{T}***
Barley tea	*Staphylococcus aureus* NBRC 100910^{T}
	Bacillus cereus NBRC 15305^{T}
Mixed herbal tea	*Pseudomonas gessardii* NBRC 101045
	Pseudomonas fluorescens NBRC 14160^{T}
Orange juice*	*Rhodotorula mucilaginosa* NBRC 0909^{T}
Tomato juice**	*Lactobacillus fermentum* NBRC 15885^{T}
Coffee with milk	*Streptococcus salivarius* NBRC 13956
	Saccharomyces cerevisiae RIB 1025
	Eschericia coli NBRC 3301
Sports drink	*Candida albicans* NBRC 1385^{T}
Mineral water	*Klebsiella pneumoniae* NBRC 14940^{T}

*: 100% orange juice.
**: Salt free tomato juice.
***: Type strain.

2.2 清涼飲料水への接種試験と菌数測定

標準寒天培地またはPDA培地で前培養した新鮮な菌体を無菌的に少量取り，10 mLの滅菌生理食塩水（0.85%食塩）に懸濁し，濁度をマクファーランド濁度0.5に調整した．この菌液を用い，1.0×10^{4} cfu/mLになるように滅菌生理食塩水（0.85%食塩）で希釈した．

500 mL入りの各種清涼飲料水のペットボトルを開栓した後，飲み残しを想定して，無菌的に半量を破棄，残液250 mLに1.0×10^{4} cfu/mLに調製した菌液を1 mL接種後，栓を閉めてかくはんした．これを1種類の組み合わせについて8本作製し，2本ずつ，4℃・静置，25℃・静置，35℃・静置および35℃・振とう（110 rpm，横振り）の条件で培養した．0，4，8，24，48および168時間後に，各ペットボトル中から1 mLを抜き取り，菌数測定を行った．なお，細菌の菌数測定には標準寒天培地（日水製薬）またはペトリフィルムACプレート（3M）を用いて35℃・48時間好気培養，酵母の菌数測定にはPDA培地（日水製薬）を用いて30℃・7日間好気培養し，生じたコロニー数を測定した．なお，菌数測定は二併行（$n=2$）で実施した．

結果および考察

1. 口飲みによる微生物の移行試験

一般生菌数は平均4.3×10^{2} cfu/mL（範囲：7.0×10^{1}~2.2×10^{3} cfu/mL），真菌数は平均2.5×10^{-1} cfu/mL（範囲：0~2 cfu/mL），大腸菌群はいずれの検体からも検出されなかった．検出された真菌は，コロニー形状の観察と細

*5 花田信弘ほか：平成30年腸内フローラシンポジウム講演要旨集，p. 19–23 (2018)．

胞の顕微鏡観察によりすべて酵母であることが確認できた.

口腔には数百種類の微生物が存在し，その総菌数は1,000億～1兆個にのぼると言われている．また，口飲みによって唾液がペットボトル内に逆流するが，その唾液には10^8 cfu/mLの微生物が存在すると報告されている*5. 今回検出された菌数はこの知見に比べると非常に少ないが，これは今回用いた培養条件では検出できないか，または清涼飲料水中でも増殖できずに減少傾向を示す微生物が唾液の主要なフローラ構成菌（*Prevotella*属，*Veillonella*属，*Streptococcus*属，*Porphyromonas*属，*Neisseria*属，*Haemophilus*属，*Aggregatibacter*属など）であるためと考えられた[7)~9)]．すなわち口飲みによって口腔から多くの微生物が清涼飲料水中に混入するが，その多くは清涼飲料水中では増殖できずに淘汰され，限定された条件下で増殖能力のある一部の微生物だけが増殖すると考えられた.

以上の知見に基づき，清涼飲料水中で唾液からの増殖可能な微生物の移行量を考慮し，かつ過剰接種にならない程度の菌量を考え，500 mL容量ペットボトル1本あたり10^4個程度の接種とした.

2. 清涼飲料水への接種試験

接種試験は二併行で実施したが，各測定における菌数の差が10倍以内であったことから，結果の平均値を用いて図を作成した（図1～図10）.

2.1 緑茶

*P. agglomerans*は25℃でのみ増殖し，培養7日後には内容液中に細菌増殖による濁りとフロックが観察された（Fig. 1）．4℃では時間とともに減少していったのに対し，35℃では24時間後には，振とうの有無にかかわらず検出限界以下になった.

4℃に比べ35℃で速やかに減少した理由として，緑茶中に含まれるカテキンを主体とした抗菌成分の影響が大きく発現したものと考えられた．しかしながら，大腸菌群等のグラム陰性菌はカテキン耐性が強く緑茶中で増殖することが知られている[10)]．また先行研究においても，大腸菌群に区分される*Enterobacter cancerogenus*や*K. pneumoniae*の分離株は，緑茶中，35℃の培養で，初発菌数約0.4 cfu/mLから24時間後には10^4 cfu/mL以上となった．したがって，カテキンなどの存在する環境に適応した腐敗品からの分離株を用いれば，幅広い温度域で増殖すると推察された.

2.2 麦茶

*S. aureus*はいずれの条件でも減少し，48時間後には検出限界以下となった（Fig. 2）．麦茶中にカテキンはほとんど含まれていないが，没食子酸，カテコール，ゲンチシン酸などの抗菌性物質が含まれており，これらに対する耐性が標準菌株にはないため，増殖しなかったと推察された[11)]．

*B. cereus*は4℃では増殖しなかったが，35℃では24時間以降増殖し，1週間後には振とうの有無にかかわらず初期菌数の約10万倍になった（Fig. 3）．25℃では48時間以降増殖し，1週間後には初期菌数の約10万倍になった．増

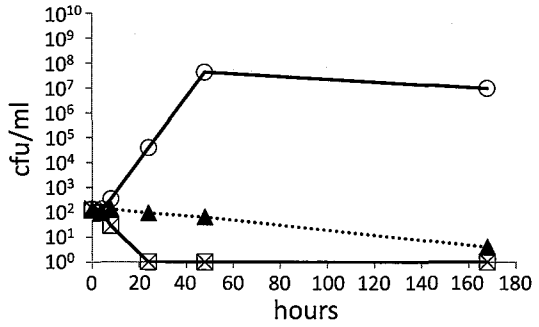


Fig. 1. Growth of *P. agglomerans* in green tea

▲: 4℃; ○: 25℃; □: 35℃ without shaking; ×: 35℃ with shaking

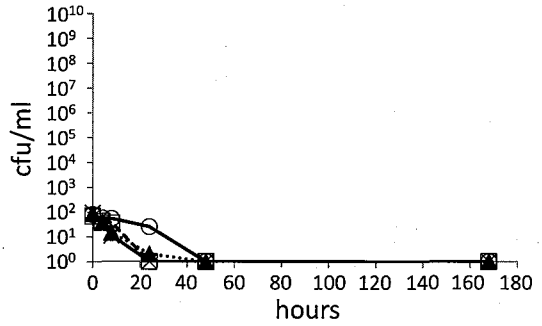


Fig. 2. Growth of *S. aureus* in barley tea

▲: 4℃; ○: 25℃; □: 35℃ without shaking; ×: 35℃ with shaking

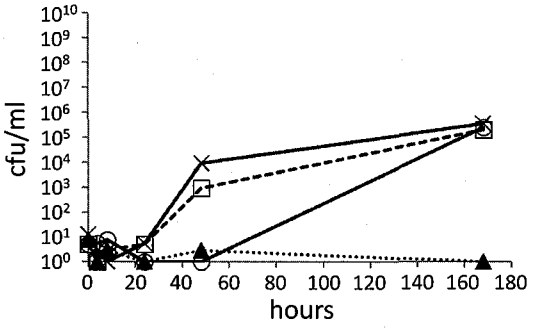


Fig. 3. Growth of *B. cereus* in barley tea

▲: 4℃; ○: 25℃; □: 35℃ without shaking; ×: 35℃ with shaking

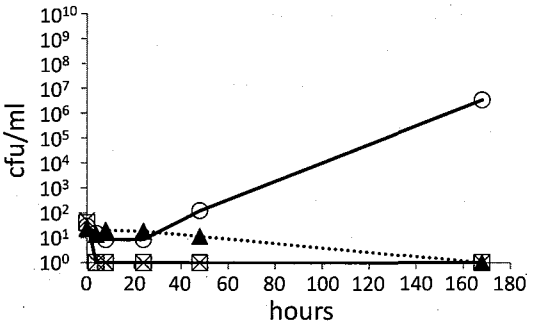


Fig. 4. Growth of *P. fluorescens* in mixed herbal tea

▲: 4℃; ○: 25℃; □: 35℃ without shaking; ×: 35℃ with shaking

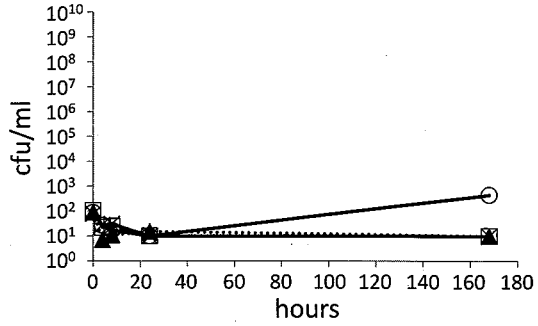


Fig. 5. Growth of *R. mucilaginosa* in orange juice

▲: 4℃; ○: 25℃; □: 35℃ without shaking; ×: 35℃ with shaking

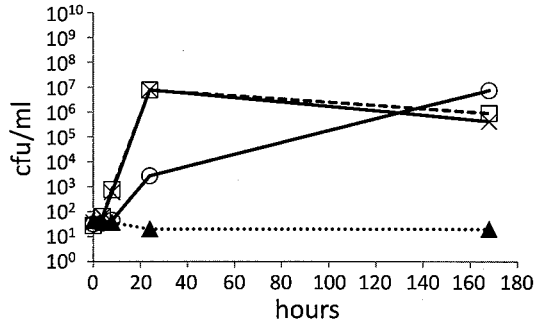


Fig. 6. Growth of *L. fermentum* in tomato juice

▲: 4℃; ○: 25℃; □: 35℃ without shaking; ×: 35℃ with shaking

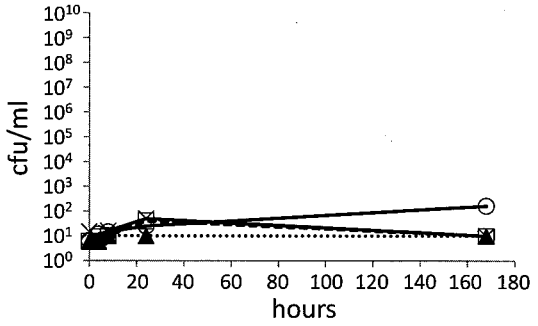


Fig. 7. Growth of *S. cerevisiae* in coffee with milk

▲: 4℃; ○: 25℃; □: 35℃ without shaking; ×: 35℃ with shaking

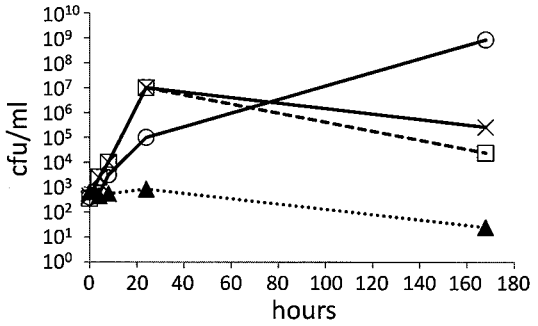


Fig. 8. Growth of *E. coli* in coffee with milk

▲: 4℃; ○: 25℃; □: 35℃ without shaking; ×: 35℃ with shaking

殖が確認されたペットボトルにおいて，接種していないコントロールと比べ，細菌増殖による濁りが観察された．

2.3 混合茶

P. gessardii は麦茶中における *S. aureus* と同様に，いずれの条件でも減少し，48時間後には検出限界以下となった．緑茶と同様に，混合茶中に含まれるカテキンなどの抗菌性物質が増殖を阻害したと考えられた．

P. fluorescens は25℃でのみ増殖し，培養7日後には内容液中に細菌性フロックが観察された（Fig. 4）．接種後4時間目から，35℃では振とうの有無にかかわらず検出限界以下となった．*P. fluorescens* は至適増殖温度帯が25～30℃の範囲にあるため，35℃で減少してしまったのは培養温度が至適発育温度より高かったためと考えられた．なお，4℃では時間とともに減少した．

2.4 オレンジジュース

R. mucilaginosa は25℃の培養で7日後に10倍程度の増殖が観察された（Fig. 5）．その際，内容液の分離と酵母の増殖による沈殿が観察された．

果汁飲料はpHが低いことから，腐敗の原因は真菌であることがほとんどである．また先行研究においては，分離株の *C. albicans* と *S. cerevisiae* は，果汁飲料中，25と35℃の培養で48時間後に 10^4 cfu/mL以上となった．また *R. mucilaginosa* も，25℃で初発菌数約0.4 cfu/mLから48時間後に 10^4 cfu/mL以上に，35℃では 10^2～10^4 cfu/mLとなった．本実験で使用した *R. mucilaginosa* 標準菌株の増殖が分離株と比べて弱かったことは，柑橘系果汁中にはリモネンなどの抗菌活性を有する物質が含まれており，このような物質に適応できるか否か増殖性に影響を及ぼしていると考えられた[12]．

2.5 トマトジュース

L. fermentum は4℃以外で増殖が確認された（Fig. 6）．24時間以降，内容液の分離とガス発生に伴うペットボトルの膨張も観察された．標準菌株を用いても，*L. fermentum* については先行研究と同様な増殖性が確認できた．

2.6 ミルク入りコーヒー

S. cerevisiae は25℃の培養で7日後に25倍程度に増殖したが，その他の条件では菌数の増減がなかった（Fig. 7）．このような増殖性は，先行研究でも同じであった．

S. salivarius は予備実験でコロニー形成が確認できなかったため，接種試験は行わなかった．先行研究で *S. salivarius* は，25と35℃の培養で初発菌数約0.4 cfu/mLから24時間後に 10^4 cfu/mL以上となった．結果が異なった理由の一因として，分離株と標準菌株の生物学的な違いも考えられるが，本研究では先行研究で使用したホット販売もされるミルク入りコーヒーと同じ製品を用いたが，好熱性嫌気性芽胞菌対策として添加されている乳化剤の抗菌作用が影響したと考えた．そこで，乳化剤の添加濃度が低いと予想されるチルド流通のミルク入りコーヒーに変更

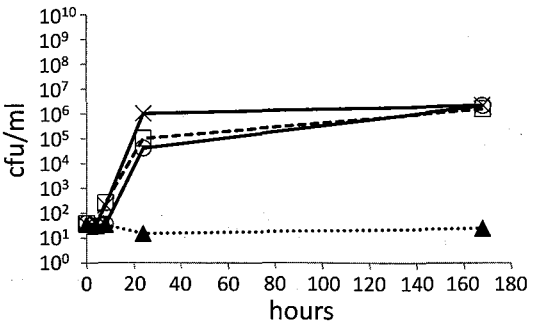


Fig. 9. Growth of *C. albicans* in sport drink

▲: 4℃; ○: 25℃; □: 35℃ without shaking; ×: 35℃ with shaking

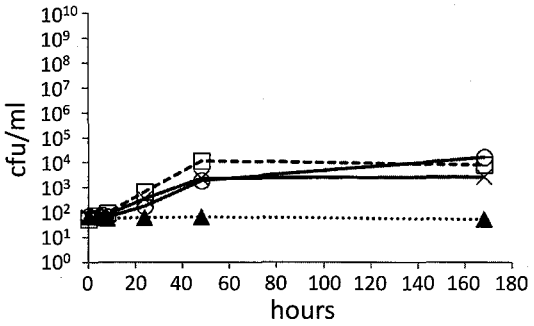


Fig. 10. Growth of *K. pneumoniae* in mineral water

▲: 4℃; ○: 25℃; □: 35℃ without shaking; ×: 35℃ with shaking

し，また，乳化剤の抗菌効果が発現しにくいとされているグラム陰性菌の*E. coli*で接種試験を行った[13]．その結果，*E. coli*は4℃で増殖しなかった（Fig. 8）．25と35℃では増殖し，内容液の分離が観察された．25℃に比べ，35℃のほうが増殖が速かったが，菌数の低下も速かった．

2.7 スポーツドリンク

*C. albicans*は4℃以外で増殖し，先行研究と同様の増殖性が確認できた．接種していないコントロールと比べると，増殖が確認されたペットボトルでは内容液に酵母の増殖による濁りが観察された（Fig. 9）．

2.8 ミネラルウォーター

*K. pneumoniae*は4℃以外で増殖し，先行研究と同様の増殖性が確認できた（Fig. 10）．ミネラルウォーターには栄養成分が少ないため，48時間後に100～1,000倍程度に達し，それ以降は増殖しなかった．培養7日目の外観は，細菌が増殖しているペットボトルでもコントロールとの差が目視では確認できなかった．

以上の結果，製品の原材料の改変が微生物の増殖性に与える影響も考慮しなければならないが，一部の標準菌株では分離株と同じような増殖性を示さないことが確認できた．企業において標準菌株でチャレンジテストなどを行う際は，このような増殖性の違いがあることを留意しなければならない．日本薬局方ではさまざまな規格に対して検査の標準化のための供試菌株が提示されており，清涼飲料水を含む食品分野においても，一般的に入手可能な増殖性確認のための供試菌株の提案が期待される．

また，今回の試験において，4℃では7日間培養しても増殖が確認されなかった．このことから開栓後は冷蔵保管することで微生物による腐敗を抑えられると考えられるが，冷蔵保管するまでの取り扱い方や飲用の方法が一様ではない．開栓後，多くの菌数が混入した場合や，長時間常温におかれてから冷蔵した場合，さらには，冷蔵庫開け閉めにより冷蔵庫内の温度が上昇することなども十分考えられ得るため，冷蔵保管が腐敗の完全な抑止にはならない．また清涼飲料水の種類によっても腐敗に至る期間はさまざまである．したがって，開栓後の清涼飲料水を一時的に冷蔵で保管することは適切な手段であるが，長期間保管せず，できるだけ早く飲み切ることが望ましいと考えられる．

文　献

1) Hara-Kudo, Y., Goto, K., Onoue, Y., Watanabe, M., Lee, K., Kumagai, S., Sugita-Konishi, Y., Ohnishi, T. Analysis of consumer complaints related to microbial contamination in soft drinks. Shokuhin Eiseigaku Zasshi (Food Hyg. Saf. Sci.), **50**, 315–320 (2009).
2) 工藤由起子．厚生労働科学研究　清涼飲料水中の汚染原因物質に関する研究　2008年度研究報告書（https://mhlw-grants.niph.go.jp/niph/search/NIDD00.do?resrchNum＝200837047A）
3) 工藤由起子．厚生労働科学研究　清涼飲料水中の汚染原因物質に関する研究　2009年度研究報告書（https://mhlw-grants.niph.go.jp/niph/search/NIDD00.do?resrchNum＝200939028A）
4) 工藤由起子．厚生労働科学研究　清涼飲料水中の汚染原因物質に関する研究　2010年度研究報告書（https://mhlw-grants.niph.go.jp/niph/search/NIDD00.do?resrchNum＝201033009B）
5) Ohnishi, T., Goto, K., Kanda, T., Kanazawa, Y., Ozawa, K., Sugiyama, K., Watanabe, M., Konuma, H., Hara-Kudo, Y. Microbial contamination associated with consumption and the growth in plastic bottled beverage. J. Environ. Sci. Health A Tox/Hazard Subst. Environ. Eng., **48**, 781–790 (2013).
6) Watanabe, M., Ohnishi, T., Araki, E., Kanda, T., Tomita, A., Ozawa, K., Goto, K., Sugiyama, K., Konuma, H., Hara-Kudo, Y. Characteristics of bacterial and fungal growth in plastic bottled beverages under a consuming condition model. J. Environ. Sci. Health A Tox/Hazard Subst. Environ. Eng., **49**, 819–826 (2014).
7) Takeshita, T., Nakano, Y., Kumagai, T., Yasui, M., Kamio, N., Shibata, Y., Shiota, S., Yamashita, Y. The ecological proportion of indigenous bacterial populations in saliva is correlated with oral health status. ISME J., **3**, 65–78 (2009).
8) Kobayashi, M., Okuwaki, Y., Kawai, H. Survival of oral bacterial flora in PET bottled soft drinks by drinking directly. Nihon Shokuseikatsu Gakkaishi (Journal for the Integrated Study of Dietary Habits), **17**, 105–110 (2006).

9) Kobayashi, M., Okuwaki, Y., Kawai, H. Survival of oral bacterial flora in PET bottled soft drinks by drinking directly. Nihon Shokuseikatsu Gakkaishi (Journal for the Integrated Study of Dietary Habits), **17**, 204–210 (2006).
10) 江藤良樹，市原祥子，濱崎光宏，村上光一，竹中重幸，堀川和美，進藤知美，池田加江，梅崎武彦．ペットボトル詰め緑茶（清涼飲料水）の製品白濁苦情に係る細菌学的検討．福岡県保健環境研究所年報，**38**, 76–80 (2010).
11) 梶本五郎，鬼武直子，奥田浩子，村上智嘉子．麦茶の抗酸化性と抗酸化成分．日本食品科学工学会誌，**46**, 67–74 (1999).
12) Bevilacqua, A., Corbo, M. R., Sinigaglia, M. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of eugenol, limonene, and citrus extract against bacteria and yeasts, representative of the spoiling microflora of fruit juices. J. Food Prot., **73**, 888–894 (2010).
13) Kato, N., Shibasaki, I. Comparison of Antimicrobial Activities of Fatty Acids and Their Esters. Hakko Kogakuzasshi (Journal of Fermentation Technology), **53**, 793–801 (1975).

開栓したペットボトル入り清涼飲料水における微生物の増殖挙動（調査・資料）

後藤慶一[1]，廣瀬昭博[1]，折笠旦継[1]，佐藤瑛吏[1]，
尾入且基[1]，久保田かおり[1]，井上瑠奈[2]，中山素一[2]

食衛誌 **61**(5)，200～205(2020)

開栓したペットボトル入り清涼飲料水中における微生物の増殖挙動を評価するため，各種微生物の標準菌株を用いて接種試験を行った．約 1.0×10^4 cfu の微生物を 250 mL の各種清涼飲料を入れた 500 mL のペットボトルに接種し，4 °C・静置，25 °C・静置，35 °C・静置および 35 °C・振とうの条件で 1 週間培養した．経時的に菌数測定を行い，先行研究「清涼飲料水中の汚染原因物質に関する研究」[2)~4)] の結果と比較した．その結果，トマトジュースと *Lactobacillus fermentum*，スポーツドリンクと *Candida albicans*，およびミネラルウォーターと *Klebsiella pneumoniae* の組み合わせは，分離株を用いて評価した先行研究と類似した増殖性が観察された．しかしながら，緑茶，混合茶，オレンジジュースおよびミルク入りコーヒーでは，標準菌株の増殖性は弱い傾向で，これは，清涼飲料水中に含まれている成分によって微生物の増殖が阻害されたと推察された．以上の結果から，標準菌株と腐敗物からの分離株では増殖性が異なることがあり，安全性評価をするうえでは注意を要することが明らかとなった．

[1] 東海大学
[2] 九州産業大学