

## 各種のヨーグルトおよびコーヒー中における 食中毒細菌の変動に関する研究

薩田 清明 稲葉 雅子\* 中村 章子\*\* 紺野ゆき江\*\*\* 川嶋美千代\*\*\*\*  
 中里奈津紀\*\*\*\*\* 小俣 文乃\*\*\*\*\* 矢満田紀子\*\*\*\*\* 岡田久美子\*\*\*\*\*  
 土田 枝里\*\*\*\*\* 江本 綾子\*\*\*\*\* 斉藤 絵里\*\*\*\*\*

### Study on the changes of food poisoning bacteria in various kind of yoghurt and coffee

Satsuta kiyooki, Inaba masako, Nakamura akiko, Konno yukie, Kawashima michiyo, Nakasato natsuki,  
 Omata ayano, Yamanta noriko, Okada kumiko, Tsuchida eri, Emoto ayako and Saito eri

Various yoghurt and coffee were studied on the changes of food poisoning bacteria after the bacteria were added in them. The results are the following.

1. Each of food poisoning bacteria in yoghurt was found to reduce significantly after a few days (4 to 7 days later).
2. In coffee with the lowest percentage sugar concentration (1.6%), food poisoning bacteria was found to reduce significantly in each case.
3. Coffee containing 1.5% and over of caffeine was found to have the antibacterial action on *Salmonella*.

キーワード：ヨーグルト，腸管出血性大腸菌，黄色ブドウ球菌，サルモネラ菌，乳酸菌

#### I はじめに

狂牛病の問題<sup>1)</sup>から派生した食肉の偽装表示事件，輸入野菜の残留農薬汚染，ダイエット用食品による健康被害，さらに2000年6月から9月にかけてみられた某大手乳業メーカーの乳製品を原

因食品とする黄色ブドウ球菌による大型食中毒事件<sup>2)</sup>などは，消費者の間に現在市販されている飲食物に対する安全性に大きな不安を拡大させた。そしてこれらの事件がJAS法や食品衛生法の改正へと発展させた<sup>3,4)</sup>。

乳製品の中でもヨーグルトは，全年齢層において嗜好されている。本製品は健康志向の面から注目されている乳酸菌の保健機能を利用した特定保健用食品である。このヨーグルトは種類の上でも，かつ容量的にも多くのものがある。

現在市販されているヨーグルトの中で，比較的容量の大きい500g入り容量のものを購入した場合，一度にすべて食するとは限らない。特に一人暮らしのヒトは一週間に数回に分けて消費するものと考えられる。一方コーヒーの消費量は各種缶入り清涼飲料水全体の36%を占めている。

家政学部家政学科

\* 特別養護老人ホームむらさき野苑

\*\* 篠ノ井総合病院

\*\*\* ねむの木保育園

\*\*\*\* 滝山病院

\*\*\*\*\* 城山町

\*\*\*\*\* 老人保健施設若葉

\*\*\*\*\* 済世会向島病院

\*\*\*\*\* 高萩市役所

\*\*\*\*\* 若葉病院

\*\*\*\*\* 株式会社 DHC

\*\*\*\*\* 相武台病院

これらの製品、特にヨーグルトを購入し開封してから全量を消費するまでの間に、食中毒細菌に汚染された場合には、重大な問題の発生を想定しなければならない。

そこで著者らは、某大手乳業メーカー3社のヨーグルトおよび糖濃度の異なる3種のコーヒーが、各種の食中毒細菌によって汚染された場合を想定し、各試料に主な食中毒細菌を添加して、その後の変動について比較検討した成績について報告する。

## II 研究試料および研究方法

### 1. 研究試料について

#### (1) ヨーグルトおよびコーヒー

現在市販されている大手乳業メーカー3社のプレーンヨーグルト500g入りを試料(以下試料A, 試料B, 試料Cとする)とした。一方缶コーヒーは糖濃度の異なるコーヒーで、以下無糖コーヒーを試料D, 微糖コーヒーを試料E, 加糖コーヒーを試料Fとした。

#### (2) 使用細菌

本検討に用いた細菌は、わが国における細菌性食中毒の代表的な原因細菌である腸管出血性大腸菌, 黄色ブドウ球菌, サルモネラ菌の3菌種である。

### 2. 研究方法について

#### (1) 試料および菌液の調整

ヨーグルトの調整は各試料100gを滅菌した500mlの三角コルベンに採取し、さらに流動性を高める目的で滅菌生理的食塩水50mlを加えた。そこへブイヨン培地で37℃, 24時間培養させた各食中毒細菌液3mlを添加し、マグネチックスターで十分に攪拌したものを原液とした。

コーヒーの調整は各試料100mlを滅菌した200mlの三角コルベンに採取し、そこへ上記の37℃で24時間培養した菌液を滅菌生理的食塩水で100倍に希釈し、その2mlを添加し、よく攪拌し原液として室温に24時間放置した。

#### (2) 菌量の測定

ヨーグルトは各原液の調整後、直ちに菌量を測定すると共に家庭用冷蔵庫に保管し1日後, 4日後, 7日後の各試料中の菌量を測定した。一方コーヒーの対照(蒸留水100mlに前述の菌液を2ml

を加えた)は直ちに、各試料(D, E, F)は24時間後のそれぞれの菌量を測定した。

各試料中の菌量の測定方法は、原液1mlを滅菌生理的食塩水9mlに混入し10倍希釈、さらに必要に応じて同様の方法で10倍段階希釈した。各希釈液1mlを腸管出血性大腸菌はBGLB培地へ、黄色ブドウ球菌は7% NaCl加ブイヨン培地へ、サルモネラ菌はSBGスルファ基礎培地へ接種し37℃で24~48時間培養した。培養後の判定は培養液に混濁(ブドウ球菌), ガスの産生(大腸菌群), 培地色の変化(サルモネラ菌)が認められた希釈倍数をもって各試料中の菌量とした。

(3) その他としてpHの測定はpHメーターを使用した。一方各試料の平均菌量を求め、経目的に各試料間の平均値の差を統計学的(t-検定)に比較検討した。

## III 結果

### 1. ヨーグルト中の変動について

#### (1) 腸管出血性大腸菌について

各試料中における腸管出血性大腸菌の変動についてみたのが表1(図1)~表3(図3)である。試料Aの成績について表1でみると、直後の菌量は $10^6$ を中心に分布し、平均菌量は $10^{5.8}$ (SD: 1.509)を、以下同様にみると1日後の菌量は $10^5$

表1. A社における経目的にみた菌量別分布について

	10	10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>9</sup>	SD
1				1	1	1	5		2		$10^{5.8}$ (1.549)
4				2		2	3	3			$10^{5.5}$ (1.509)
7		1	2	2	2	3					$10^{5.4}$ (1.429)
		2	1	1	6						$10^{5.1}$ (1.286)

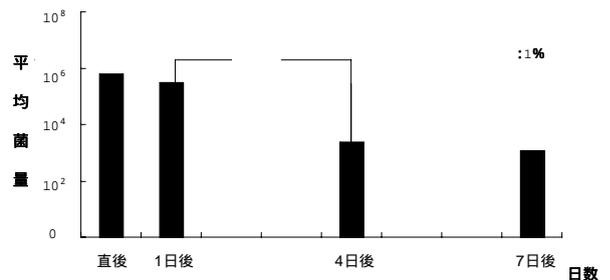


図1. A社における経目的にみた平均菌量の変動について

～10<sup>6</sup>を中心に分布し、その平均菌量は10<sup>5.5</sup> (SD: 1.549) を、4日後の菌量は10<sup>3</sup>～10<sup>5</sup>を中心に分布し、その平均菌量は10<sup>3.4</sup> (SD: 1.429) を、7日後の菌量は10<sup>2</sup>～10<sup>4</sup>を中心に分布し、その平均菌量は10<sup>3.1</sup> (SD:1.286) をそれぞれ示している。各平均菌量の差を図1で見ると、1日後と4日後の間に有意差(1%)を認められたが、しかし混入直後と1日後、4日後と7日後との間に差は認められない。すなわち1日後の値に比べて4日後の方が有意に減少していることが認められた。

次に試料Bの成績について表2で見ると、直後の菌量は10<sup>5</sup>～10<sup>7</sup>を中心に分布し、その平均菌量は10<sup>5.7</sup> (SD: 1.370) を、1日後の菌量は10<sup>4</sup>～10<sup>6</sup>を中心に分布し、その平均菌量は10<sup>4.8</sup> (SD: 1.549) を、4日後と7日後の菌量は共に10<sup>4</sup>～10<sup>5</sup>を中心に分布し、その平均菌量はそれぞれ10<sup>4.2</sup> (SD: 1.476)、10<sup>4.1</sup> (SD: 1.853) を示している。各平均菌量の差を図2で見ると、経日的に減少傾向を示しているが、各平均菌量の間に有意差は認められない。

表2. B社における経日的にみた菌量別分布について

	10	10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>9</sup>	SD
1				1	1	2	3	2	1		10 <sup>5.7</sup> (1.370)
4			1	1	2	2	3	1			10 <sup>4.8</sup> (1.549)
7			2	1	2	3	2				10 <sup>4.2</sup> (1.476)
7		1	2		2	2	3				10 <sup>4.1</sup> (1.853)

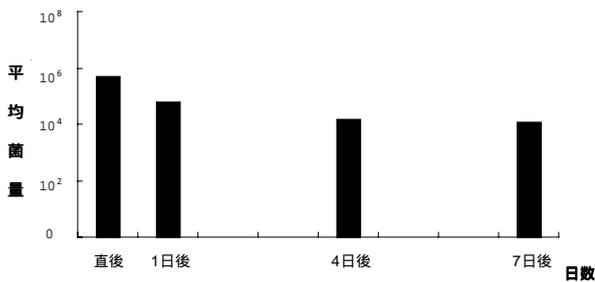


図2. B社における経日的にみた平均菌量の変動について

次に試料Cの成績について表3で見ると、直後の菌量は10<sup>5</sup>～10<sup>6</sup>を中心に分布し、その平均菌量は10<sup>5.6</sup> (SD: 1.506) を、1日後の菌量は10<sup>5</sup>を中心に分布し、その平均菌量は10<sup>4.8</sup> (SD:1.689) を、4日後の菌量は10<sup>4</sup>～10<sup>5</sup>を中心に分布し、その平均菌量は10<sup>4.2</sup> (SD: 1.751) を、7日後の菌量は10<sup>4</sup>～10<sup>5</sup>を中心に分布し、その平均菌量は10<sup>4.0</sup> (SD: 1.699) をそれぞれ示している。各平均菌量の差を図3で見ると、経日的に減少を示しているが、各平均菌量に有意差は認められない。

を、4日後の菌量は10<sup>4</sup>～10<sup>5</sup>を中心に分布し、その平均菌量は10<sup>4.2</sup> (SD: 1.751) を、7日後の菌量は10<sup>4</sup>～10<sup>5</sup>を中心に分布し、その平均菌量は10<sup>4.0</sup> (SD: 1.699) をそれぞれ示している。各平均菌量の差を図3で見ると、経日的に減少を示しているが、各平均菌量に有意差は認められない。

表3. C社における経日的にみた菌量別分布について

	10	10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>9</sup>	SD
1					1	1	3	2	2	1	10 <sup>5.6</sup> (1.506)
4			1	2		4	1	2			10 <sup>4.8</sup> (1.689)
7		1	1	1	1	5		1			10 <sup>4.2</sup> (1.751)
7		1	1	2	1	3	2				10 <sup>4.0</sup> (1.699)

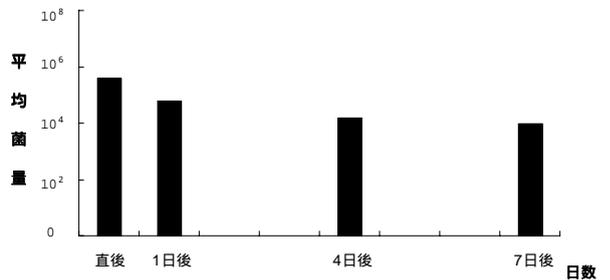


図3. C社における経日的にみた平均菌量の変動について

(2) 黄色ブドウ球菌について

各試料中における黄色ブドウ球菌の変動についてみたのが表4(図4)～表6(図6)である。試料Aの成績について表4で見ると、直後の菌量は10<sup>6</sup>～10<sup>7</sup>を中心に分布し、その平均菌量は10<sup>6.6</sup> (SD: 0.699) を、1日後の菌量は10<sup>5</sup>～10<sup>6</sup>を中心に分布し、その平均菌量は10<sup>5.3</sup> (SD: 0.675) を、4日後の菌量は10<sup>4</sup>を中心に分布し、その平均菌量は10<sup>3.7</sup> (SD:1.252) を、7日後の菌量は10<sup>2</sup>を中心に分布し、その平均菌量は10<sup>2.3</sup> (SD:0.675) をそれぞれ示している。各平均菌量の差を図4で見ると、直後と1日後との間に差は認められないが、1日後と4日後、4日後と7日後の間ではいずれも有意差(1%)が認められた。すなわち1日後に比べて4日後の方が、さらに7日後の方がいずれも有意に減少していることが認められた。

次に試料Bの成績について表5で見ると、直後の菌量は10<sup>6</sup>～10<sup>7</sup>を中心に分布し、その平均

表 4. A社における経日的にみた菌量別分布について

	10 <sup>10</sup>	10 <sup>9</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>1</sup>	SD
					5	4	1				10 <sup>6.6</sup> (0.699)
1						1	5	4			10 <sup>5.3</sup> (0.675)
4			2	2	4	1	1				10 <sup>3.7</sup> (1.252)
7			8	1	1						10 <sup>2.9</sup> (0.675)

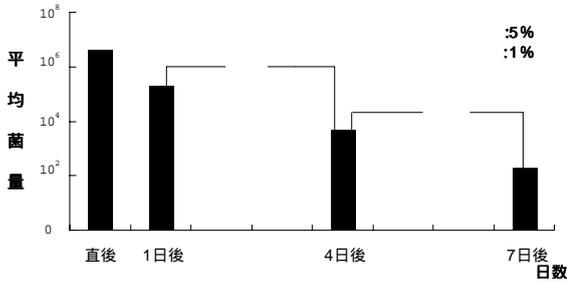


図 4. A社における経日的にみた平均菌量の変動について

菌量は  $10^{6.7}$  (SD : 0.675) を, 1日後の菌量は  $10^5 \sim 10^6$  を中心に分布し, その平均菌量は  $10^{5.7}$  (SD: 0.949) を, 4日後の菌量は  $10^5$  を中心に分布し, その平均菌量は  $10^{4.9}$  (SD : 0.568) を, 7日後の菌量は  $10^4$  を中心に分布し, その平均菌量は  $10^{3.4}$  (SD : 0.843) をそれぞれ示している。各平均菌量の差を図5でみると, 直後と1日後の間 (5%), 1日後と4日後の間 (5%), 4日後と7日後の間

表 5. B社における経日的にみた菌量別分布について

	10 <sup>10</sup>	10 <sup>9</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>1</sup>	SD
					4	5	1				10 <sup>6.7</sup> (0.675)
1						1	3	4	2		10 <sup>5.7</sup> (0.949)
4			2	7	1						10 <sup>4.9</sup> (0.568)
7			2	2	6						10 <sup>3.4</sup> (0.843)

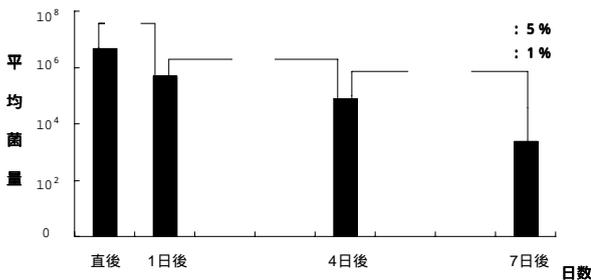


図 5. B社における経日的にみた平均菌量の変動について

表 6. C社における経日的にみた菌量別分布について

	10 <sup>10</sup>	10 <sup>9</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>1</sup>	SD
					2	7	1				10 <sup>6.9</sup> (0.568)
1						1	5	4			10 <sup>5.3</sup> (0.675)
4			1	1	3	4	1				10 <sup>4.3</sup> (1.160)
7			3	6	1						10 <sup>2.9</sup> (0.876)

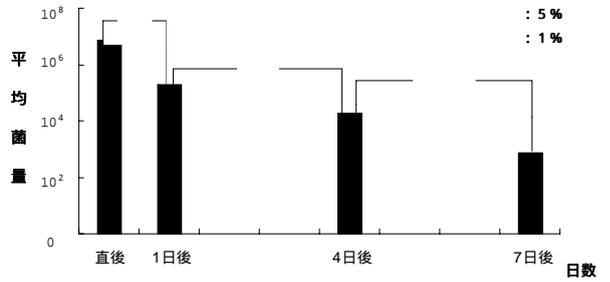


図 6. C社における経日的にみた平均菌量の変動について

(1%) にいずれも有意差のあることが認められた。すなわち経日的にみて明らかに有意に減少していることが認められた。

次に試料Cの成績について表6でみると, 直後の菌量は  $10^7$  を中心に分布し, その平均菌量は  $10^{6.9}$  (SD : 0.568) を, 1日後の菌量は  $10^5 \sim 10^6$  を中心に分布し, その平均菌量は  $10^{5.3}$  (SD: 0.675) を, 4日後の菌量は  $10^4 \sim 10^5$  を中心に分布し,

表 7. A社における経日的にみた菌量別分布について

	10 <sup>10</sup>	10 <sup>9</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>1</sup>	SD
					2	5	2	1			10 <sup>6.2</sup> (0.919)
1			1	2	2	3	2				10 <sup>4.3</sup> (1.337)
4			5	4	1						10 <sup>2.6</sup> (0.699)
7	1	6	3								10 <sup>1.5</sup> (0.632)

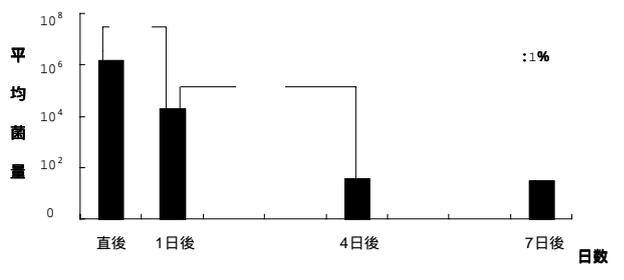


図 7. A社における経日的にみた平均菌量の変動について

その平均菌量は  $10^{4.3}$  (SD : 1.160) を、7日後の菌量は  $10^3$  を中心に分布し、その平均菌量は  $10^{2.9}$  (SD : 0.876) をそれぞれ示している。各平均菌量の差を図6でみると、直後と1日後の間 (1%), 1日後と4日後の間 (5%), 4日後と7日後の間 (1%) にいずれも有意差のあることが認められた。すなわち経日的にみて明らかに有意に減少していることが認められた。

(3) サルモネラ菌について

各試料中のサルモネラ菌の変動についてみたのが表7 (図7) ~表9 (図9) である。試料Aの成績について表7でみると、直後の菌量は  $10^6 \sim 10^7$  を中心に分布し、その平均菌量は  $10^{6.2}$  (SD:0.919) を、1日後の菌量は  $10^3 \sim 10^5$  を中心に分布し、その平均菌量は  $10^{4.3}$  (SD : 1.337) を、4日後の菌量は  $10^1 \sim 10^2$  を中心に分布し、その平均菌量は  $10^{1.6}$  (SD:0.699) を、7日後の菌量は  $10^1 \sim 10^2$  を中心に分布し、その平均菌量は  $10^{1.5}$  (SD:0.632) をそれぞれ示している。各平均菌量の差を図7でみると、直後と1日後の間、1日後と4日後の間にはいずれも有意差 (1%) のあることが認められた。すなわち混入直後から4日後までは有意に減少していることが認められた。しかし、4日後と7日後の間には差は認められなかった。

次に試料Bの成績について表8でみると、直

後の菌量は  $10^6$  を中心に分布し、その平均菌量は  $10^{5.7}$  (SD : 1.252) を、1日後の菌量は  $10^5 \sim 10^6$  を中心に分布し、その平均菌量は  $10^{5.9}$  (SD:1.101) を、4日後の菌量は  $10^5$  を中心に分布し、その平均菌量は  $10^{4.2}$  (SD : 1.619) を、7日後の菌量は  $10^2 \sim 10^4$  を中心に分布し、その平均菌量は  $10^{3.2}$  (SD : 1.317) をそれぞれ示している。各平均菌量の差を図8でみると、1日後と4日後の間に有意差 (5%) のあることが認められた。すなわち1日後に比べて4日後には有意に減少していることが認められた。

次に試料Cの成績について表9でみると、直後の菌量は  $10^5 \sim 10^6$  を中心に分布し、その平均菌量は  $10^{6.0}$  (SD : 1.333) を、1日後の菌量は  $10^6$  を中心に分布し、その平均菌量は  $10^{5.4}$  (SD:1.265) を、4日後の菌量は  $10^3 \sim 10^4$  を中心に分布し、その平均菌量は  $10^{3.3}$  (SD : 1.418) を、7日後の菌量は  $10^2$  を中心に分布し、その平均菌量は  $10^{1.9}$  (SD : 0.738) をそれぞれ示している。各平均菌量の差を図9でみると、直後と1日後の間に差は認められなかった。しかし、1日後と4日後の間 (5%), 4日後と7日後の間 (5%) にいずれも有意差のあることが認められた。すなわち経日的にみて明らかに有意に減少していることが認められた。

表8. B社における経日的にみた菌量別分布について

	10	10	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>9</sup>	SD
				1	1		6	2			10 <sup>5.7</sup> (1.252)
1					1	2	5	1	1		10 <sup>5.9</sup> (1.101)
4		1	1	1		6	1				10 <sup>4.2</sup> (1.619)
7		1	2	3	2	2					10 <sup>3.2</sup> (1.317)

表9. C社における経日的にみた菌量別分布について

	10	10	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>9</sup>	SD
					1	3	3	1	2		10 <sup>6.0</sup> (1.333)
1				1	2		6	1			10 <sup>5.4</sup> (1.265)
4		2		3	3	2					10 <sup>3.3</sup> (1.418)
7		3	5	2							10 <sup>1.9</sup> (0.738)

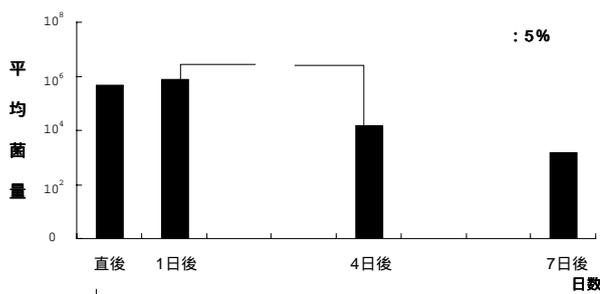


図8. B社における経日的にみた平均菌量の変動について

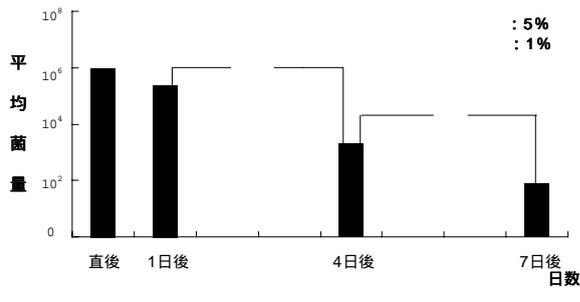


図9. C社における経日的にみた平均菌量の変動について

## 2) コーヒー中の変動について

## (1) 腸管出血性大腸菌

各試料中における各細菌の変動についてみたのが表 10 である。腸管出血性大腸菌に対する対照の菌量をみると、 $10^7$  を中心に分布し、その平均菌量は  $10^{7.1}$  (SD : 0.738) を示している。これに対して試料 D の菌量は  $10^6 \sim 10^7$  を中心に分布し、その平均菌量は  $10^{6.2}$  (SD : 0.632) を、試料 E の菌量は  $10^7 \sim 10^8$  を中心に分布し、その平均菌量は  $10^{7.4}$  (SD : 0.966) を、試料 F の菌量は  $10^{10} \sim 10^{11}$  を中心に分布し、その平均菌量は  $10^{10.1}$  (SD : 0.738) をそれぞれ示している。各試料の平均菌量と対照の平均菌量との比較では試料 D、試料 F との間に有意差 (1%) のあることが認められた。すなわち試料 D は有意に減少していることが、また逆に試料 F は有意に増加していることが認められた。しかし、試料 E との間に有意差は認められなかった。さらに各試料間の平均菌量の差を比較してみると、試料 D と試料 E、試料 D と試料 F、試料 E と試料 F の各平均菌量の間でいずれも有意差 (1%) が認められた。すなわち平均菌量は試料 D、試料 E、試料 F の順に有意に多いことが認められた。

## (2) 黄色ブドウ球菌

本菌に対する対照の平均菌量をみると、 $10^4 \sim 10^6$  を中心に分布し、その平均菌量は  $10^{4.6}$  (SD : 0.516) を示している。これに対して試料 D の菌

量は  $10^3$  を中心に分布し、その平均菌量は  $10^{3.1}$  (SD : 0.568) を、試料 E の菌量は  $10^2 \sim 10^4$  を中心に分布し、その平均菌量は  $10^{3.3}$  (SD:0.949) を、試料 F の菌量は  $10^3 \sim 10^4$  を中心に分布し、その平均菌量は  $10^{3.4}$  (SD : 0.699) をそれぞれ示している。各試料の平均菌量と対照の平均菌量との比較では各試料とも対照に比べて有意に減少していることが認められた。しかし、各試料間の平均菌量の比較では差は認められない。

## (3) サルモネラ菌

本菌に対する対照の菌量をみると、 $10^3 \sim 10^5$  を中心に分布し、その平均菌量は  $10^{3.5}$  (SD:1.509) を示している。これに対して試料 D の菌量は  $10^0 \sim 10^2$  を中心に分布し、その平均菌量は  $10^{1.3}$  (SD: 1.494) を、試料 E の菌量は  $10^3 \sim 10^4$  を中心に分布し、その平均菌量は  $10^{3.2}$  (SD : 0.919) を、試料 F の菌量は  $10^4 \sim 10^6$  を中心に分布し、その平均菌量は  $10^{5.0}$  (SD : 2.108) をそれぞれ示している。各試料間の平均菌量と対照の平均菌量との比較では試料 D との間に有意差 (1%) が認められた。すなわち試料 D の平均菌両の方が対照のその値に比べて有意に減少していることが認められた。しかし試料 E、試料 F の平均菌量と対照のその値との間に大きな差は認められなかった。さらに各試料間の平均菌量の比較でみると、試料 D と試料 E、試料 F との間 (1%)、試料 E と試料 F との間 (5%) にいずれも有意差のあることが認められた。すなわち試料 D より試料 E の方が、さらに試料 E より試料 F の方がいずれも有意に平均菌量の多いことが認められた。

## (4) カフェインについて

コーヒーの主成分であるカフェインの濃度を 5%、3%、2%、1.5%、1% に調整し、その抗菌

表 10. 各試料中における 3 種の食中毒細菌の変動について

	<math>10^0</math>	<math>10^1</math>	<math>10^2</math>	<math>10^3</math>	<math>10^4</math>	<math>10^5</math>	<math>10^6</math>	<math>10^7</math>	<math>10^8</math>	<math>10^9</math>	<math>10^{10}</math>	<math>10^{11}</math>	平均値(SD)
対照							2	5	3				$10^{7.1}$ (0.738)
D							6	3					$10^{6.2}$ (0.632)
E							2	3	4	1			$10^{7.4}$ (0.966)
F										2	5	3	$10^{10.1}$ (0.738)
対照					4	6							$10^{4.6}$ (0.516)
D			1	7	2								$10^{3.1}$ (0.568)
E			3	1	6								$10^{3.3}$ (0.949)
F			1	4	5								$10^{3.4}$ (0.699)
対照		2		2	3	3							$10^{3.5}$ (1.509)
D	5	1	4										$10^{1.3}$ (1.494)
E		1		5	4								$10^{3.2}$ (0.919)
F		1	2	1		3	3						$10^{5.0}$ (2.108)

糖度 : Aが1.6%、Bが5.1%、Cが9.6%      平均値 : 10回の平均菌量

表 11. カフェイン濃度によるサルモネラ菌増殖の有無

カフェイン濃度 (%)	増殖の有無
5.0	-
3.0	-
2.0	-
1.5	-
1.0	+

作用についてサルモネラ菌を対象に検討してみた成績は表 11 に示すごとくである。これで見るとカフェイン濃度が 1.5% 以上では本菌の増殖は全く認められなかった。

#### IV 考察

当研究室では長年にわたり市販されている飲食物を対象に、その安全性について細菌学的方向から研究を継続実施している。これまでに豆腐<sup>5)</sup>、レトルト食品<sup>6)</sup>、ミネラルウォーター<sup>7)</sup>、厚焼き卵とアイスクリーム<sup>8)</sup>、カップ野菜サラダとサンドイッチ<sup>9)</sup>などの成績は報告してきた。さらに、日本公衆衛生学会を中心に発表もしてきた。

最近におけるわが国の食中毒の発生状況を見ると、1996 (平成 8) 年以降は増加傾向を示し、特に 1997 (平成 9) 年から 2000 (平成 12) 年の 4 年間は著しい増加を示している。この中で注目すべき食中毒事件は 2000 (平成 12) 年 6 月～7 月を中心に近畿地方の某大手乳業メーカーで製造された低脂肪加工乳による大型食中毒事件である。原因物質は加工乳から検出された黄色ブドウ球菌によって産生された毒素 (エンテロトキシン) によるものであった。

一方、1997 (平成 9) 頃年から患者一人の食中毒事件が多く報告されるようになったことから、1998 (平成 10) 年の食中毒統計 (従来は 2 人以上の集団発生が対象) に、一人のみの発生も集計し発表されるようになった<sup>4)</sup>。そこで著者らは乳類とその加工品に分類されるヨーグルトに着目した。その理由は本製品が健康食品として全年齢層の人に嗜好されていることに加えて、一人暮らしの高齢者が 500g 入り容量を購入した場合、一度に全量を食べることは考えられず、一週間前後を要することが予想される。この間に食中毒細菌に汚染されることも考えなければならない。もし、そのような場合には当然食中毒患者は一人である。

このような社会背景の中で、ヨーグルトおよびその対照としての缶コーヒーを対象に、この飲食物が食中毒細菌に汚染された場合を想定して、主な食中毒細菌の一定量を添加し、その後の変動について検討してみた。

##### 1. ヨーグルト中における食中毒細菌の変動につ

いて

まず各試料中の食中毒細菌添加直後の平均菌量に比べて、いずれの細菌も 1 日後には減少傾向がみられるものの大きな差は認められない。しかし 4 日後および 7 日後には、いずれの細菌においても有意 (1% または 5%) に減少していることが認められた。特に試料 A は試料 B や試料 C に比べて減少する割合の大きいことが認められた。

次に各試料中における食中毒細菌が減少を示したことについて検討してみた。まず試料 A の直後の平均 pH は 4.3、1 日後は 4.5、4 日後は 4.5、7 日後は 4.4 を、試料 B ではそれぞれ 4.6、4.8、4.7、4.6 を、試料 C ではそれぞれ 4.4、4.6、4.6、4.5 を示した。各試料とも添加直後の平均 pH に比べて 1 日後と 4 日後には上昇を示したが、7 日後には下降していることが認められた。

以上のことからみて経目的に各試料の平均 pH は酸性側を示しているが、いずれの細菌に対しても増殖可能な pH の範疇に入っていることから、本検討に用いた食中毒細菌はヨーグルト中では、増殖が経目的には抑制的、または静菌的な影響を受けたものと考えられる。

次に各試料中の乳酸菌との関係について検討してみた。ヨーグルトは生乳、乳製品の中にスターターとして各種の乳酸菌を混入し、これが乳酸発酵を行うことで嗜好性の高い芳香、食味が形成されるようになる。現在のヨーグルトは色々な乳酸菌を組合せ製品化されるものが多く、各社の製品の製造に用いた乳酸菌の種類にも相違がみられる。

まず乳酸菌の定義をみると<sup>10)</sup>、乳酸「炭水化物 (ブドウ糖) を発酵し、産生する酸の 50% 以上が乳酸である場合をいう」を多量に産生するとともに、炭水化物を含む培地によく増殖し、グラム陽性で運動性がなく、胞子を作らない細菌群のことである。

乳酸菌によるブドウ糖の発酵はホモ発酵 (1mol のブドウ糖から 2mol の乳酸を産生、同質のものが作られる)、あるいはヘテロ発酵 (1mol のブドウ糖から乳酸、エタノール、二酸化炭素がそれぞれ 1mol ずつ産生され、異なった発酵産物が蓄積される) にしたがって乳酸を産生する<sup>11)</sup>。従って、各試料中の乳酸菌の種類や量によって酸の産生度

が異なるものと思われる。

試料 A に含まれている乳酸菌は *Lactobacillus bulgaricus* 菌が  $10^9$  個以上、*Streptococcus thermophilus* 菌が  $10^{10}$  個以上も含有していることが判明した。この両者は絶対ホモ発酵を行うことからみて多くの乳酸を産生することが考えられる。

試料 B に含まれる乳酸菌には試料 A の 2 種（ホモ発酵する）に加えて、多形性桿菌である *Bifidobacterium longum* 菌（胞子をつくり、本来の乳酸菌の定義から外れた細菌であるヘテロ発酵を行う細菌である）などが菌数にして合計  $2 \times 10^9$  個以上も含有している。

試料 C に含まれる乳酸菌は試料 B の 2 菌種のほかに、桿菌の *Lactobacillus gasseri* 菌が  $5 \times 10^8$  以上、*Bifidobacterium longum* 菌が  $10^9$  個以上含有している。

3 社の試料間に共通して含有している乳酸菌は *Lactobacillus bulgaricus* と *Streptococcus thermophilus* で、これらはヨーグルトの製造において必須の細菌である<sup>12)</sup>。試料 A はこれらの 2 種の細菌が、試料 B には *Bifidobacterium longum* 菌を加えた 3 種の細菌が、さらに試料 C には試料 B の 3 菌種に *Lactobacillus gasseri* を加えた 4 種の乳酸菌が関与している。

ここで試料別に pH をみると、試料 A、B、C の順に平均 pH の低いことが判明した。これは各試料中に含有している乳酸菌量の多い順に一致していた。従って、ヨーグルト成分に含まれる乳酸菌の量、特にホモ発酵を行う乳酸菌が多いほどたくさん乳酸を産生して製品の pH を酸性側へ導いている要因であると考えられる。

これらのことからみて、酸を産生する乳酸菌を含むヨーグルト内は、本検討に用いた食中毒細菌の増殖にとって最適な pH が 6.5 ~ 8.5 であることからみて生存環境としては不適であり、特に乳酸菌を多量に含むヨーグルトほどその増殖は抑制され、さらに生育にも不適であるといわなければならない。

各試料にこれらの食中毒細菌を添加してから一週間が経過するまでの平均 pH の変動をみると、3 試料とも直後に比べて 1 日後には有意に上昇したが、しかしその後は 7 日後までわずかずつである

が低下傾向を示した。これは冷蔵保存中に徐々に酸が産生されるアフターアシディフィケーション、または過熟と呼ばれる現象によるものである。

ヨーグルト製造における乳酸菌の代謝活性は培養後の冷却によって停止される。しかし、0 ~ 5℃ で貯蔵しても乳酸菌の酵素活性を完全に停止することはできず徐々に酸の産生現象が起こるものである。pH4 以下では主として桿菌が、pH4 以上では桿菌と球菌の両方がアフターアシディフィケーションをもたらす<sup>12)</sup>。

今回の試料の pH は経過中のすべてにおいて 4 以上を示しており、ほとんどすべてのヨーグルト菌がこれに関与したと思われる。貯蔵の初期において pH の高いヨーグルトは、pH の低いヨーグルトよりも強いアフターアシディフィケーションを示すが、長期保存するとヨーグルトの pH は同じくらいになるとされている。この事実は著者らの 3 試料間の平均 pH が直後には有意に上昇を認めたにもかかわらず、7 日後にはその差がみられなくなったことから明らかである。

次に乳酸菌の保健機能についてみると免疫賦活化作用、抗腫瘍作用、抗菌性、炎症予防、プロテアーゼ、プロバイオディクス、乳糖分解、整腸作用などがある<sup>13)</sup>。乳酸菌が示す抗菌性作用の一つとして乳酸の産生とわずかな酢酸の産生がある。酢酸は乳酸よりも pH を低下させやすいばかりでなく強い抗菌性を有している。さらに乳酸菌の産生する酢酸が強い抗菌性を発揮するのは乳酸が酢酸の解離を阻止するためである<sup>10)</sup>。

*Bifidobacterium* 属は比較的酢酸を産生しやすく、これを含むのは試料 B と試料 C である。このように試料 A に比べて試料 B と試料 C に含まれる乳酸菌量は圧倒的に少ないにもかかわらず、経日的にみて菌種間の菌量の差が少なくなったのはアフターアシディフィケーションに加え、この菌属による酢酸の産生が大きく関与していることが強く示唆される。

ヨーグルト菌による過酸化水素の産生も抗菌性を示す要因の一つである。過酸化水素が細菌の細胞膜脂質の酸化を促進し、細胞膜での物質透過性を増大させる。結果的に細菌内での酸化反応が異常に増大し、核や細胞蛋白質が本来の機能を消失

させて細胞を死に至らしめるのである<sup>10)</sup>。

さらに乳酸菌による抗菌性についてはバクテリオシンの産生が挙げられる。この物質は「抗菌作用を示す蛋白質成分の一種で、通常はその類縁菌に対して作用する物質」と定義されている<sup>13)</sup>。これを産生する乳酸菌は試料Cに含まれている *Lactobacillus gasseri* で、サルモネラ菌などの食中毒細菌に対しても比較的広い抗菌活性を示す。

各社メーカーによるとヨーグルトは開封後2～3日の間に食することが望ましいとしている。しかし、500g入り容量のヨーグルトを一人暮らしの人では通常一週間の間に分けて食される。このとき蓋の開閉、さらにヨーグルトを攪拌する動作が加わり、空気中の雑菌、酸素などが混入し得る。生育の早い好気性微生物、特にカビや酵母 (pH5.0～6.0の酸性側が最適) がヨーグルトの表面に落下付着し、増殖を始めることによって、乳酸菌の生育の余地がなくなる。従って、生育場所は発酵物の中心部に限られてしまう。また乳酸菌は酸素が存在することで、その働きも低下をもたらす<sup>11)</sup>。このように食品衛生上の問題に加え、ヨーグルトに期待される保健機能の低下といった問題も生じてくるであろう。

## 2. コーヒー中における食中毒細菌の変動について

緑茶から抽出されたカテキンには腸炎ビブリオや黄色ブドウ球菌、腸管出血性大腸菌などに対する抗菌活性のあることが<sup>14)～16)</sup>、またコーヒーを一日に1～3杯以上飲む人は飲まない人に比べて胃がんや大腸がんの危険度が半分以下であることなどが指摘されている。さらに石井らによるとコーヒーには大腸菌やヘリコバクター・ピロリ菌に対する抗菌作用や胃潰瘍、食中毒を防ぐ作用のあることを明らかにしている。

そこで著者らは糖度の異なるコーヒーを対象として、主な食中毒細菌に対する抗菌性について検討してみた。

各試料 (D, E, F) 中における食中毒細菌の変動で共通した傾向は、いずれの細菌も試料D中では対照に比べて有意 (1%) に減少していることが認められた。逆に試料F中では腸管出血性大腸菌は有意 (1%) に増加を認めたが、サル

モネラ菌は増加を認めるが有意差は認められない。一方黄色ブドウ球菌は有意 (1%) に減少していることが認められた。試料E中では黄色ブドウ球菌、サルモネラ菌はともに対照に比べて差はないものの減少していることが、腸管出血性大腸菌に対しては若干の増加で認められた。

次に各試料間の傾向についてみると、いずれの細菌も試料D, E, Fの順に平均菌量の多いことが認められた。

以上のごとく対照の平均菌量に比べて試料D中では有意の減少を、試料F中では有意の増加または増加傾向を、試料E中では大きな差のないことがそれぞれ認められたのである。

次に各試料間の含有内容について検討してみた。まず検討日ごとに15回 (30回中) にわたって糖度 (糖度とは食品中のショ糖の含有率を百分率で示したものを) を測定した。その平均値をみると、試料Dが1.6%、試料Eが5.1%、試料Fが9.6%をそれぞれ示した。その他の表示内容を見ると、試料Dはコーヒーと香料のみ、試料Eと試料Fはほとんど差がみられないが、試料Eはコーヒー、砂糖の順で、試料Fは砂糖、コーヒーの順 (缶コーヒーは含有量の多い順に表示されることになっている) のごとく試料Fの方が糖質の多いことと糖度の高いことが一致している。腸管出血性大腸菌はブドウ糖や乳糖を分解して増殖することから、これらの含有量の少ない試料ほど本菌の増殖に抗菌的作用のあることが示唆される。

次に検討日ごとに15回にわたって測定した各試料の平均pHをみると、試料Dは5.61 (SD: 0.099)、試料Eは6.26 (SD: 0.097)、試料Fは6.36 (SD: 0.070) をそれぞれ示した。これらの差をみると、試料Dのその値は試料E、試料Fに比べて有意 (1%) にpHの低いこと、すなわち酸性度の強いことが認められた。一方本検討に用いた食中毒細菌の至適pHについてみると、腸管出血性大腸菌は5.0～9.0 (至適pH7.0～8.0) を、黄色ブドウ球菌は4.5～9.0 (至適pH6.5～8.0) を、サルモネラ菌は4.0～9.5 (至適pH6.5～8.5) をそれぞれ示している。

以上のことからみて、本検討に用いた試料 (D, E, F) のpHが5.6～6.4にあることからみて、

検討細菌の変動に大きな影響を及ぼしたとは考えられないであろう。

さらにコーヒー中の成分であるクロロゲン酸とカフェインの抗菌活性について検討してみた。まずクロロゲン酸はコーヒーの生豆中にはほとんど存在せず、焙煎することにより生成量が増加するフェノール化合物の一種<sup>17)</sup>である。コーヒー中に含有するフェノール化合物はクロロゲン酸以外にも、プロトカテキユ酸、カフェイン酸がある。これらの物質にはレジオネラ菌に対する抗菌作用のあることが認められている。<sup>18)</sup>

そこで著者らはカフェインに着目し、その抗菌活性について検討した。各試料に添加したと同菌量に調整したサルモネラ菌を作用させた。その結果をみるとカフェイン濃度が1.5%以上ではサルモネラ菌の増殖が全く認められなかった。すなわちカフェインにはサルモネラ菌に対する抗菌活性のあることを明らかにすることができた。

缶コーヒーの内容表示は含有量の多い順である。これによると試料Dはコーヒー、香料のみである。試料Eはコーヒー、砂糖、全粉乳以下6種が、試料Fは砂糖、コーヒー、全粉乳以下試料Eと同じである。従って試料E、試料Fのそれぞれ同量当たりのコーヒーやカフェインの含有量は試料Dより少ないことになる。従って試料Dのカフェインが最も多く、次いで試料E、逆に試料Fは最も少ないということになる。

以上のようなカフェイン濃度を含む各試料に食中毒細菌を添加したことになる。いずれの細菌に対しても試料Dの24時間後の平均菌量が有意に減少し、逆に試料Fでは有意に増加または増加傾向で認められたことは、カフェインに抗菌活性のあることを強く示すものである。

#### IV 結論

著者らは、一人暮らしの人が500g入り容量のヨーグルトを購入した場合、一週間に数回に分けて消費することに着目した。すなわちその間に食中毒細菌によって汚染された場合を想定し、メーカーの異なるヨーグルト(試料A、試料B、試料C)に食中毒細菌を添加し、コーヒー(試料D、試料E、試料F)を対照にその変動について検討し、

次のような成績が得られた。

1. ヨーグルト中では、いずれの食中毒細菌も経日的(4~7日後)に有意に減少することが認められた。
2. 特に試料Aは試料B、試料Cに比べて減少率の大きいことが認められた。
3. 試料A、試料B、試料Cの順に平均pHの低いことが認められた。これは各試料に含有する乳酸菌の菌種やその菌量との関係が示唆された。
4. さらに各試料中に産生された酢酸やバクテリオシンの量が食中毒細菌の増殖に対して抑制的に作用することが示唆された。
5. 各コーヒー中の平均糖度は試料Dが1.6%、試料Eが5.6%、試料Fが9.6%であることが認められた。
6. 試料D中では対照に比べて、いずれの食中毒細菌も有意に減少することが認められた。
7. 試料E中では対照に比べて、黄色ブドウ球菌、サルモネラ菌は減少傾向を、腸管出血性大腸菌は増加傾向を示したが、いずれも有意差は認められなかった。
8. 試料F中では対照に比べて、腸管出血性大腸菌は有意の増加を、黄色ブドウ球菌は有意の減少を示したが、サルモネラ菌に大きな差は認められなかった。
9. さらに、いずれの食中毒細菌も試料D、E、Fの順に平均菌量の多いことが認められた。これは糖度の多い順と一致していた。
10. カフェイン濃度が1.5%以上ではサルモネラ菌に対する抗菌作用のあることが認められた。

以上のごとく、ヨーグルト中では食中毒細菌の増殖は認められず、むしろ含有する乳酸菌量の多いほど有意に減少することが明らかにされた。一方、コーヒー中では含有する糖度の最も高い(9.6%)試料ほど食中毒細菌の増加傾向を示すことが認められた。しかし、糖度の低い(1.6%)試料ほどカフェインの含有量も多く、食中毒細菌は有意に減少することが認められた。

なお、本論文の内容の要旨は第62回日本公衆衛生学会総会(2003年10月、京都市)で発表した。

## V 参考文献

1. 雪印食中毒事件に係る厚生省・大阪市原因究明合同専門家会議：雪印乳業食中毒事件の原因究明調査結果について（最終報告）—低脂肪乳等による黄色ブドウ球菌エンテロとキシシA型食中毒の原因について—。食品衛生研究, Vol51, No2, 17～91, 2001.
2. 山内一也：牛海綿状脳症の現状と今後の対策。食品衛生研究, Vol51, No11, 7～18, 2001.
3. 並木 章：改正JAS法下での有機農産物に係る検査認証制度について（農産物流通技術研究会第98回研究例会会議事録食品（特に農産物関連の）各種表示について。「原産地」「遺伝子組み換え食品」「有機農産物」）フレッシュフードシステム, 29(4), 78～80, 2000.
4. 薩田清明, 寺田 厚編者：食品衛生学, 第一章 食品衛生について。1～13, 51～56, 同文書院, 2004.
5. 薩田清明, 黒木玉枝, 柴田真理子, 石井直美, 今井優子, 辻 雅子, 中島麻美：飲食物の安全性に関する細菌学的研究。一特に豆腐を対象として—。東京家政学院大学紀要, 自然科学・工学系, 第39号, 9～16, 1999.
6. 薩田清明, 堺 由布子, 佐々木玲子, 浅井康枝, 川村綾子, 竹内美佳, 長谷川祐子：飲食物の安全性に関する細菌学的研究。—第2報 レトルト食品を対象として—。東京家政学院大学紀要, 自然科学・工学系, 第40号, 15～20, 2000.
7. 薩田清明, 宮崎美紀, 吉見玲子：飲食物の安全性に関する細菌学的研究, 一第3報 ミネラルウォーターを対象として—。東京家政学院大学紀要, 自然科学・工学系 第41号, 1～6, 2001.
8. 薩田清明, 石井恵子, 浦田和子, 戸木真由美, 鶴飼香内子, 佐藤友子, 矢野知世子, 吉田奈緒子, 飯村美和子, 村岡範子, 相澤美香, 牟田美紀子：飲食物の安全性に関する細菌学的研究, 一第4報 厚焼き卵とアイスクリームを対象として—。東京家政学院大学紀要, 自然科学・工学系, 第42号, 25～34, 2002.
9. 薩田清明, 樋口幸子, 中川幸子, 木村由佳, 宇留野京子, 藤井仁美, 豊岡香奈, 羽木麻里子, 任張恭子, 佐藤依子, 鈴木理恵：飲食物の安全性に関する細菌学的研究。—第5報 カップ野菜サラダとサンドイッチを対象として—。東京家政学院大学紀要, 自然科学・工学系, 第44号, 9～17, 2004.
10. 細野明義：乳酸菌の機能と利用, 乳酸菌の特徴。95, 発酵乳関連乳酸菌のもつ生理機能, 99, 乳業技術, 2000.
11. 岡田早苗：発酵乳の科学, 乳酸菌の機能と保健効果（細野明義編）, 乳酸菌の種類と菌学的諸性質, 180～181, アイス・ケイコーボレーション, 2002.
12. 曾根敏蘆監訳：発酵乳「ヨーグルト」, 12 オリジナルヨーグルト菌層相の構成, 実業図書, 1980.
13. 乳酸菌研究会集団会：バクテリオシン類の生成。乳酸菌の科学と技術, 275～276, 1996.
14. 戸田真佐子, 大久保幸枝, 大西玲子, 島村忠勝：日本茶の抗菌作用および殺菌作用について。日細菌誌, 14, 669～672, 1989.
15. 戸田真佐子, 大久保幸枝, 生貝 初, 島村忠勝：茶カテキン類およびその構造類似物質の抗菌作用ならびに抗毒素作用。45, 561～566, 1990.
16. 大久保幸枝, 戸田真佐子, 原 征彦, 島村忠勝：白癩菌に対する茶およびカテキンの抗菌・殺菌作用。日細菌誌, 46, 509～514, 1991.
17. 堂ヶ崎知格, 新藤哲也, 古畑勝則, 福山正文: Legionella pneumophila に抗菌活性を示すコーヒー成分の化学構造について。薬学雑誌, 122(7), 487～494, 2002.
18. 古畑勝則, 堂ヶ崎知格, 原 元宣, 福山正文: Legionella pneumophila に対するコー飲料由来フェノール化合物の抗菌作用。防菌防黴, 30(5), 291～297, 2002.