＝調 査＝

市販生食用野菜の安全管理基準に関する諸問題

—第1報— 市販カット野菜の大腸菌群および 大腸菌の汚染実態

水野良美^{*1,†}・石黒 厚^{*1}・達 牧子^{*2}・木股裕子^{*3}
富永孝子^{*4}・国方俊智^{*5}・武政二郎^{*6}

(^{*1} 株式会社ドンク, ^{*2} 神戸女子短期大学, ^{*3} 神戸市環境保健研究所, ^{*4} 生活協同組合コープえひめ,
^{*5} 三菱化学メディエンス株式会社, ^{*6} 辻調理師専門学校)

(受付: 平成 19 年 8 月 20 日)

(受理: 平成 20 年 5 月 20 日)

Issues Regarding Criteria for Safety Management of Commercially Available Vegetables to be Eaten Raw

—First Report— Status of Contamination by Coliforms and *E. coli* in Commercial Cut Vegetables

Yoshimi MIZUNO^{*1,†}, Atsushi ISHIGURO^{*1}, Makiko TSUJI^{*2}, Hiroko KIMATA^{*3},
Takako TOMINAGA^{*4}, Toshinori KUNIKATA^{*5} and Nirou TAKEMASA^{*6}

(^{*1} Donq Co., Ltd., 5-4 Koyo-cho Nishi, Higashinada-ku, Kobe-shi 650-0033, corresponding author)

(^{*2} Kobe Women's Junior College, 4-7-2 Minatojima-Nakamachi, Chuo-ku, Kobe-shi 650-0046)

(^{*3} Kobe Institute of Health, 4-6 Minatojima-Nakamachi, Chuo-ku, Kobe-shi 650-0046)

(^{*4} Ehime Consumers, 3-1-12 Asouda-cho, Matuyama-shi, Ehime 790-8543)

(^{*5} Mitsubishi Chemical Medience, Corporation, 4-25-11 Azusawa, Itabashi-ku, Tokyo 175-0051)

(^{*6} TSUJI Culinary Institute, 3-16-11 Matuzaki-cho, Abeno-ku, Osaka-shi 545-0063)

緒 言

生食用野菜に対しては、健康志向の高まりや調理の利便性から消費者の関心が高く、その消費は年々増加傾向にあり、生食用野菜の一部はカット野菜あるいは野菜サラダとして、スーパーやコンビニ等の量販店で市販され、そのまま食されている。

市販されているカット野菜には、単品と混合品を容器包装した製品がある。このうち容器包装された単品の野菜は平成 12 年 3 月の JAS 法⁴⁾で生鮮食品品質表示基準

による産地表示がされるようになり、混合品は平成 16 年 9 月の JAS 法改正⁵⁾に基づく加工食品品質表示基準で主な原材料の産地表示が義務づけられた。さらに、平成 18 年 10 月の JAS 法改正⁶⁾で野菜のすべてについて原料原産地表示が必要となった。

このように、カット野菜には法的に産地を明確にするための表示義務が課せられているが、その微生物学的安全性確保については、法的規格基準の設定の必要性が指摘^{1, 9, 10)}されているにもかかわらず、明確な基準がない。現在のところ一部の自治体や民間企業、青果物カット事

† 連絡先

*1 〒658-0033 神戸市東灘区向洋町西 5-4

*2 〒650-0046 神戸市中央区港島中町 4-7-2

*3 〒650-0046 神戸市中央区港島中町 4-6

*4 〒790-8543 愛媛県松山市朝生田町 3-1-12

*5 〒175-0051 東京都板橋区小豆沢 4-25-11

*6 〒545-0063 大阪市阿倍野区松崎町 3-16-11

Fig. 1. Procedure of detection of Coliforms and *E. coli* by three chromogenic media from cut vegetables

業協議会において、生菌数や大腸菌群数等の衛生指標菌の基準値が設定されているにすぎない。

以上のような背景を踏まえて、市販カット野菜の安全管理基準を明確にすることを目的として、衛生指標として大腸菌群数および大腸菌数を取り上げ、発色酵素基質培地を使用した汚染実態調査を実施し、得られた成績の統計学的処理結果に基づいて細菌学的衛生基準について考察した。

材料および方法

1. 検査材料

検査材料は市販カット野菜の単品（キャベツまたはレタス）あるいは混合品（キャベツまたはレタスのサラダ）であり、関西および四国地方の全国規模のチェーン店（全国店）と地域の小売店（地域店）で夏季（2005年7月～9月）に購入した121検体および冬季（2005年12月～2006年2月）に購入した113検体の合計234検体である。なお、検査材料は購入後10℃以下に冷蔵保存し、市販カット野菜の消費期限日の午後に検査に供した。

2. 検査方法

1) 使用培地

大腸菌群数および大腸菌数検査に使用した培地は、3種類の市販発色酵素基質培地、すなわち、アガートリコロール培地（エルメックス）、クロモカルトコリフォーム寒天培地（メルク）、ペトリフィルム培地 EC プレート（スリーエムヘルスケア）である。

2) 大腸菌群数および大腸菌数検査法

大腸菌群数および大腸菌数検査法は Fig. 1 のとおりである。検査材料 25 g を滅菌ストマッカー袋に秤量し、滅菌希釈液（エルメックス）の 225 ml を加え、ストマッカーで 30 秒間処理したものを試料原液とした。その試料原液の 1 ml を滅菌生理食塩水の 9 ml に接種し、10 倍段階希釈液を調製した。各 10 倍段階希釈液の 1 ml ずつを滅菌シャーレ 2 枚に接種し、それぞれの滅菌シャーレに 2 種類の発色酵素基質寒天培地（アガートリコロール培地とクロモカルトコリフォーム寒天培地）の約 20

ml ずつを加え、混和し、固化後、35℃ で 18～24 時間培養後、発育した赤色集落を大腸菌群陽性、青色集落を大腸菌陽性とした。また、ペトリフィルム培地 EC プレートでは上部フィルムを持ち上げ、各 10 倍段階希釈液の 1 ml を下部フィルムの中心部に接種し、35℃ で 24 時間培養後、ガス産生の赤色集落および青色集落を大腸菌群陽性、ガス産生の青色集落を大腸菌陽性とした。

3 種類の発色酵素基質寒天培地からの大腸菌群数および大腸菌数はそれぞれ陽性と判定した集落数に希釈倍率を乗じたものである。

3) 統計処理方法

大腸菌群数の *t* 検定処理法はエクセル統計 2002（(株)社会情報サービス）で行った。

結 果

1. 夏季と冬季における市販カット野菜の大腸菌群および大腸菌検出状況

市販カット野菜 234 検体からの季節別の大腸菌群および大腸菌検出状況は Table 1 のとおりである。大腸菌群陽性数は 220 検体 (94.0%)、大腸菌陽性数は 5 検体 (2.1%) であった。

季節別の市販カット野菜の大腸菌群検出状況は、夏季 121 検体中 115 検体 (95.0%) および冬季 113 検体中 105 検体 (92.9%) が陽性であり、両季節とも高い陽性率であった。

季節別の市販カット野菜の大腸菌群数は Fig. 2 のとおりである。大腸菌群陽性の夏季 115 検体および冬季 105 検体における大腸菌群数は、 $10 \sim 10^2$ 個/g が 9 検体 (夏季: 2, 冬季: 7)、 $10^2 \sim 10^3$ 個/g が 31 検体 (夏季: 11, 冬季: 20)、 $10^3 \sim 10^4$ 個/g が 55 検体 (夏季: 27, 冬

Table 1. Detection of Coliforms and *E. coli* from cut vegetables in summer and winter

Season	No. of samples	No. of positive (%)	
		Coliforms	<i>E. coli</i>
Summer	121	115 (95.0)	3 (2.5)
Winter	113	105 (92.9)	2 (1.8)

Fig. 2. Coliforms counts from cut vegetables in summer and winter

季: 28), $10^4 \sim 10^5$ 個/g が 58 検体 (夏季: 27, 冬季: 31), 3×10^5 個/g 以上が 67 検体 (夏季: 48, 冬季: 19) であった。夏季と冬季別で大腸菌群数を比較すると, 3×10^5 個/g 以上が夏季で 41.7%, 冬季で 18.1% と夏季が 2.3 倍高かった。なお, 夏季および冬季別の大腸菌群数の t 検定では, 分散に有意差が認められたが, 平均値には有意差は認められなかった。

夏季および冬季別の大腸菌陽性数はそれぞれ 3 検体 (2.5%) および 2 検体 (1.7%) であり, 夏季および冬季の大腸菌陽性率は同様であった。

大腸菌陽性 5 検体の大腸菌数は, $10 \sim 10^2$ 個/g が 3 検体 (夏季: 2, 冬季: 1), $10^2 \sim 10^3$ 個/g が 2 検体 (夏季: 1, 冬季: 1) であった。なお, 大腸菌陽性数は 5 検体と少ないが, 大腸菌 $10 \sim 10^2$ 個/g の 3 検体における大腸菌群数は $10^3 \sim 10^4$ 個/g, 大腸菌 $10^2 \sim 10^3$ 個/g の 2 検体では大腸菌群数は 10^3 個/g であった。

2. 全国店および地域店における市販カット野菜の大腸菌群および大腸菌検出状況

全国店および地域店における市販カット野菜の季節別の大腸菌群および大腸菌検出状況は Table 2 のとおりで

ある。全国店および地域店で購入した市販カット野菜 115 検体および 119 検体の大腸菌群陽性数はそれぞれ 111 検体 (96.5%) および 109 検体 (91.6%) であり, 全国店と地域店における市販カット野菜の大腸菌群陽性率はほぼ同率であったが, 全国店および地域店の大腸菌群数の t 検定では, 分散には有意差が認められなかったが, 平均値に有意差が認められた。

全国店および地域店からの夏季および冬季における市販カット野菜の大腸菌群の検出状況は, 夏季における全国店 57 検体および地域店 64 検体からそれぞれ 57 検体 (100.0%) および 58 検体 (90.6%) が陽性であった。また, 冬季における全国店 58 検体および地域店 55 検体からの市販カット野菜の大腸菌群陽性数はそれぞれ 54 検体 (93.1%) および 51 検体 (92.7%) で, 全国店と地域店の季節別の大腸菌群陽性率はほぼ同様であった。

一方, 全国店および地域店の大腸菌陽性数はそれぞれ 1 検体 (0.9%) および 4 検体 (3.4%) であった。夏季における大腸菌陽性数はそれぞれ 1 検体 (1.8%) および 2 検体 (3.1%) であった。また, 冬季は地域店からの 2 検体 (3.6%) のみであった。

全国店の大腸菌陽性 1 検体の大腸菌菌数は 10 個/g であり, 地域店の大腸菌陽性 4 検体の大腸菌菌数は $10 \sim 10^2$ 個/g が 2 検体および $10 \sim 10^3$ 個/g が 2 検体であった。

3. 使用培地別の市販カット野菜からの大腸菌群および大腸菌検出状況

市販カット野菜 234 検体の 3 種類の発色酵素基質培地による大腸菌群および大腸菌検出状況は Table 3 のとおりである。大腸菌群陽性数は, クロモカルトコリフォーム寒天培地が 220 検体 (94.0%), アガートリコロール培地が 214 検 (91.5%) およびベトリフィルム培地 EC プレートが 195 検体 (83.3%) であった。また, 大腸菌陽性数はクロモカルトコリフォーム寒天培地が 2 検体 (0.9%), アガートリコロール培地が 4 検体 (1.7%) およびベトリフィルム培地 EC プレートが 3 検体 (1.3%) であった。なお, 大腸菌陽性 5 検体の使用培地による内訳は, 3 種類の発色酵素基質培地すべてからの検

Table 2. Distribution of Coliforms and *E. coli* from cut vegetables in chain stores and local shops

Store	Season	No. of samples	No. of positive (%)	
			Coliforms	<i>E. coli</i>
Chain stores	Summer	57	57 (100.0)	1 (1.8)
	Winter	58	54 (93.1)	
	Subtotal	115	111 (96.5)	1 (0.9)
Local shops	Summer	64	58 (90.6)	2 (3.1)
	Winter	55	51 (92.7)	2 (3.6)
	Subtotal	119	109 (91.6)	4 (3.4)
Total		234	220 (94.0)	5 (2.1)

Table 3. Detection of Coliforms and *E. coli* by three chromogenic media from cut vegetables

Medium	No. of samples	No. of positive (%)	
		Coliforms	<i>E. coli</i>
Chromocut coliform agar	234	220 (94.0)	2 (0.9)
Agar tricolor	234	214 (91.5)	4 (1.7)
Petrifilm EC plate	234	195 (83.3)	3 (1.3)

出が1検体(0.4%),2種類の発色酵素基質培地が2検体(0.9%)(組合せ:クロモカルトコリフォーム寒天培地とペトリフィルム培地ECプレートおよびアガートリコロロール培地とペトリフィルム培地ECプレート各1検体(0.4%)),1種類の発色酵素基質培地が2検体(0.9%)(アガートリコロロール培地のみ)であった。

考 察

市販カット野菜234検体の夏季および冬季における発色酵素基質培地による大腸菌群陽性率はそれぞれ95%および93%と季節に関係無く高率であった。今回の調査におけるカット野菜の大腸菌群陽性率はすでに報告されている43%⁷⁾,65%⁸⁾,66.7%¹⁾に比較して極めて高かった。また,検出された大腸菌群数についてみると,10個/gから 3×10^5 個/g以上と広範囲であったり,従来のデソキシコレート寒天培地を使用した報告の $10 \sim 10^3$ 個⁸⁾, $10 \sim 10^5$ 個⁷⁾, $10 \sim 10^6$ 個²⁾と同様であった。

大腸菌群陽性率の高い理由としては,これまでの大腸菌群検査はデソキシコレート寒天培地を用いた成績であるが,今回の成績は発色酵素基質培地によるものであり,大腸菌群数検査に使用した培地の違いと思われる。

従来法のデソキシコレート寒天培地による大腸菌群検査は乳糖からのガス産生およびグラム染色によるグラム陰性桿菌の確認を推定,確定および完全試験の順で行ない,4日間を要する。なお,乳糖からのガス産生には乳糖分解酵素(β -galactosidase)と細胞膜透過酵素の関与が必要で,細胞膜透過酵素が欠けると乳糖は発酵されない。一方,発色酵素基質法は β -galactosidaseによって培地中の合成酵素基質が加水分解されることで示される集落の色調で判定され,1日で結果が得られる。なお,このように大腸菌群の判定指標がデソキシコレート寒天培地と発色酵素基質培地では異なるため,大腸菌群陽性となる菌種³⁾は従来法より多く,発色酵素基質寒天培地による大腸菌群陽性数はデソキシコレート寒天培地より多くなる。

3種類の発色酵素基質培地による大腸菌群陽性率は,クロモカルトコリフォーム寒天培地94.0%,アガートリコロロール培地91.5%およびペトリフィルム培地ECプレート83.3%で,クロモカルトコリフォーム寒天,アガートリコロロール培地およびペトリフィルム培地ECプレートの大腸菌群陽性率に差が認められた。発色酵素基質培地による大腸菌群陽性の判定は集落の色調あるいは

ガス産生の有無等異なることから大腸菌群陽性率は使用培地によって影響されることが示唆された。

カット野菜の細菌規格基準は,一部の自治体で大腸菌群陰性とされているが,今回の成績で,定性的には90%以上のカット野菜は大腸菌群汚染が認められた。さらに,定量的にみても大腸菌群数の衛生基準値を1,000個/g以下または10,000個/g以下に設定しても,大腸菌群の不合格率はそれぞれ76.9%(180検体)および53.0%(125検体)と高率となる結果であった。また,大腸菌群の検出に使用する培地として,デソキシコレート寒天培地やEC培地を使用するMPN法等によると結果を得るのに約4日間を必要とするため迅速性に問題がある。これらを勘案するとカット野菜の安全基準として大腸菌群の定性あるいは定量検査を採用することには疑義がある。

一方,大腸菌群に比較してカット野菜の大腸菌汚染は極めて低かったことから,大腸菌の定性あるいは定量検査の採用は実用的価値があると思われる。さらに,大腸菌についても発色酵素基質法によれば発育集落の色調によって1日で判定できるという利便性がある。このようにカット野菜における衛生指標菌としての意義は検討に値する。しかも,国際的に,食品の衛生指標菌として加熱食品では大腸菌群,非加熱食品では大腸菌が採用されている。

今後,非加熱食品であるカット野菜における衛生指標菌としての大腸菌群および大腸菌の評価および意義をより明確にする必要があるが,大腸菌を採用するとしても,カット野菜の消費期限は短く,製品の安全性確保には検査成績の迅速化が急務である。

したがって,生食用カット野菜の衛生指標菌に大腸菌,短い消費期限に対応した迅速検査に発色酵素基質培地の採用を推奨する。

要 約

生食用カット野菜は消費期限が短く,安全性確保のため妥当な細菌学的基準および検査の迅速性が求められる。このことを明確にすることを目的に,夏季と冬季における市販カット野菜について,大腸菌群および大腸菌の汚染状況を調査し,以下の結果を得た。

1. 市販カット野菜234検体の大腸菌群陽性数は220検体(94.0%)と極めて高率であった。一方,大腸菌陽性数は5検体(2.1%)であった。夏季と冬季別における市販カット野菜の大腸菌群陽性率は92.9%および95.0%で差異は認められなかった。
2. 市販カット野菜の大腸菌群数は,10個/g $\sim$ 3×10^5 個/g以上と広範囲に分布し,夏季に高菌数の割合が高かった。また,大腸菌数は, $10 \sim 10^3$ 個/gであった。
3. 市販カット野菜等の大腸菌群および大腸菌数は,発色酵素基質培地を用いることによって1日で判

定できる。

4. 市販カット野菜の細菌基準の一つとして大腸菌陰性の採用を提案する。

謝 辞

市販カット野菜の大腸菌群・大腸菌数測定における統計処理をしていただきました神奈川県立保健福祉大学保健福祉学部栄養学科の金子精一先生に感謝します。

文 献

- 1) 金子賢一：生食用野菜及び果物が媒介食品となる感染症. 食衛誌, **40**, 417-426 (1999).
- 2) 小沼博隆：市販カット野菜の微生物汚染状況. 食品衛生研究, **45**, 25-37 (1995).
- 3) 仲西寿男, 寺本忠司：大腸菌群および糞便系大腸菌の迅速検査. 食品衛生検査指針 微生物編, p. 28-34, 日本食品衛生協会 (1996).

- 4) 農林水産省：生鮮食品品質表示基準. 平成 12 年 3 月 31 日, 農林水産省告示第 514 号 (2000).
- 5) 農林水産省：生鮮食品品質表示基準. 平成 16 年 9 月 14 日, 農林水産省告示第 1706 号 (2004).
- 6) 農林水産省：生鮮食品品質表示基準. 平成 18 年 10 月 27 日, 農林水産省告示第 1463 号 (2006).
- 7) 薩田清明, 山本美穂, 柴田真理子, 石井奈緒子, 久保田明子, 有尾優希, 鈴木由美子, 蛭田栄子：飲料物の安全性に関する細菌学的研究 (第 6 報). 東京家政学院紀要, **46**, 7-13 (2006).
- 8) 清水英世：生食用カット野菜の細菌汚染. 岐阜市立女子短期大学研究紀要, **55**, 55-57 (2006).
- 9) 菅野幸一, 高橋 研：カット野菜の保存技術とサラダ類の新傾向. ジャパンフードサイエンス, **10**, 40-45 (1991).
- 10) 豊島重美, 鈴木秀和, 藤田 満, 長末 修, 船山芳樹, 土谷啓文, 佐藤桂介：カット野菜の衛生学的調査. 食品衛生研究, **39**, 63-68 (1989).