＝原 著＝

Salmonella Enteritidis 付加芽物野菜種子における 超音波と温湯処理による菌数低減効果

名塚 英一[†]・M. L. BARI・一色 賢司

(独立行政法人食品総合研究所)

(受付 平成 15 年 1 月 23 日)

(受理 平成 15 年 6 月 12 日)

Effects of Ultrasound and Heat Treatments on Reduction of *Salmonella* Enteritidis Inoculated to Alfalfa, Mung Bean and Radish Seeds

Eiichi NAZUKA[†], M. L. BARI and Kenji ISSHIKI

(National Food Research Institute, 2-1-12 Kannondai,

Tsukuba, Ibaraki 305-8642; [†] Corresponding author)

A study was conducted to evaluate the efficacy of hot water and ultrasound treatments on *Salmonella* Enteritidis artificially-inoculated to alfalfa, mung bean and radish seeds. Treatment of alfalfa seeds in sterile distilled water for 5 min at 60°C with ultrasound, and mung bean seeds for 10 min at 58°C, 5 min at 60°C or 10 min at 60°C with ultrasound resulted in reductions of approximately 5.0 log₁₀ cfu/g of *Salmonella* Enteritidis without substantially decreasing the percent age of germination of seeds. However, these treatments did not eliminate the pathogen completely, since the pathogen was detected during enrichment of the treated seeds. A maximum of 2.0 log₁₀ cfu/g reduction of *Salmonella* in radish seeds was achieved by treatment with sterile distilled water (for 5 min at 60°C) along with ultrasound. Therefore, complete sterilization of radish seeds may not be possible by these treatments without compromising the quality of radish sprouts. The result of this study suggested that hot water along with ultrasound treatment may be useful in controlling pathogenic microorganisms in alfalfa and mung bean seeds.

Key words: Ultrasound, Hot water, *Salmonella* Enteritidis, Seed, Sprout

緒 言

芽物野菜は、植物の幼苗を食用とする食品である。近年の健康志向ブームにより、その消費は増加傾向にあり、さまざまな種類の芽物野菜が市場に流通している。加熱せずに生食される場合が多く、万一病原菌に汚染されていたときには食中毒が発生する危険性がある。実際に、病原菌に汚染された芽物野菜による食中毒は先進諸国を中心に報告されている。欧米ではアルファルファによる食中毒が 1995 年から 1998 年までに 9 件報告されている¹⁰⁾。さらに芽物野菜による食中毒の発生は続いており、米国食品医薬品庁(FDA)は警戒を呼びかけてい

る。また、我が国でも 1996 年にカイワレ大根種子が汚染源として疑われた大規模な食中毒が発生した⁵⁾。

芽物野菜による食中毒防止策として、FDA では塩素水による殺菌を強く推奨している。しかし、塩素水では完全な種子殺菌が困難である^{4,19)}のに加えて、高濃度の塩素水の使用は作業者の健康被害や環境汚染などが懸念されている¹⁸⁾。また、芽物野菜種子の殺菌方法として、我が国の栽培現場では 50°C から 60°C の温湯処理を実用している例もあるが、長時間の処理は種子の発芽率を低下させる。そこで、高濃度の塩素水使用の代替法として、超音波と温湯処理を併用することで温湯の処理時間を短縮し、病原菌に汚染された種子の菌数を効果的に低減し、かつ種子の発芽率を低下させない方法について検討したので報告する。

[†] 連絡先

☎305-8642 茨城県つくば市観音台 2-1-12

Table 1. Combined effect of heat and ultrasound treatments in *Salmonella* Enteritidis on alfalfa seeds

Temperature (°C)	Time (min)	Hot water			Hot water+Ultrasound			(B)-(A) (log ₁₀ cfu/g)
		Population ^a (log ₁₀ cfu/g)	Reduction ^b (A) (log ₁₀ cfu/g)	Germination (%)	Population ^a (log ₁₀ cfu/g)	Reduction ^b (B) (log ₁₀ cfu/g)	Germination (%)	
Control		5.88		85.0				
25	5				4.70	1.18	83.2	
	10				4.70	1.18	83.9	
	20				4.20	1.68	87.5	
55	5	4.18	1.70	87.0	3.30	2.58	83.7	0.88
	10	3.15	2.73	77.1	2.49	3.39	70.0	0.66
58	5	2.43	3.45	82.2	1.47	4.41	86.9	0.96
	10	1.78	4.10	79.4	0.48 (2) ^c	5.40	65.2	1.30
60	5	1.22	4.66	84.6	0 ^d (3) ^c	5.88	83.9	1.22
	10	1.00	4.88	41.0	0 ^d (3) ^c	5.88	33.1	1.00

^a Mean value of three replicated experiments.^b Within the same seed condition, log₁₀ reduction compared with the number recovered on TSAN from control.^c The number of experiments in which no colonies were detected.^d Values are <10 cfu/g.

実験方法

1. 供試菌株

供試菌株は *Salmonella* Enteritidis (以下, SE と略す) 5 株である。SE-1~4 菌株は独立行政法人動物衛生研究所より分与を受け, SE-1, SE-3 および SE-4 菌株は鶏糞から分離されたもの, SE-2 菌株は牛糞から分離されたものである。SE-5 菌株は IFO-3313 (由来は不明) であり, 発酵研究所より分与を受けた。

2. ナリジクス酸耐性菌の作製

ナリジクス酸耐性菌は化学物質による突然変異誘発¹⁾を参考に作製した。作製された耐性菌を 0.5 μg/ml ナリジクス酸加トリプトソーヤ寒天培地 (TSAN, 日水製薬) に画線塗抹し, 発育した集落を分離し, 20% グリセロールを加えて, -80°C で凍結保存した。使用時に, それぞれの耐性菌を 0.5 μg/ml ナリジクス酸加トリプトソーヤバイヨン (TSBN, 日水製薬) 5 ml に接種し, 37°C で 24 時間の培養を連続 3 回行い, 遠心分離による沈渣を, 5 ml のリン酸緩衝生理食塩水 (PBS, pH 7.2) に浮遊させた。ほぼ同等の濃度にした耐性菌の菌液を, それぞれ同量混ぜ, 十分攪拌したものを種子に接種した。

3. 種子への SE 接種

アルファルファ種子と緑豆はサラダコスモ (株) (岐阜県), カイワレ大根種子は村上農園 (株) (広島県) から入手した。それぞれの種子に SE 菌液 (約 8 log₁₀ cfu/ml) を加え, 種子全体に付着するように 1 分間静かに攪拌した。菌液を捨てた後, 滅菌アルミトレーに種子を移し, 余分な菌液を脱脂綿でふき取った後に, 安全キャビネット内で約 1 時間送風乾燥し, 十分乾燥させた種子を試験用種子とした。

4. 超音波および温湯処理

アルファルファ種子および緑豆の試験用種子 5 g を滅菌三角フラスコに採取し, 恒温水槽で 25, 55, 58 および 60°C に加温した滅菌蒸留水 (SDW) を 50 ml 加えた。ま

た, カイワレ大根種子の試験用種子 5 g を滅菌三角フラスコに採取し, 恒温水槽で 25, 58, 60, 63 および 65°C に加温した SDW を 50 ml 加えた。温湯処理のみは, 三角フラスコを各温度の恒温水槽内に 5 分間または 10 分間静置した。超音波と温湯処理の併用は, 超音波洗浄器 (BRANSON, 1510J-DTH 型, 42 kHz, 水槽容量 2 l) に各温度の温湯を入れ, 三角フラスコを静置し, 5 分間または 10 分間の超音波処理を行った。超音波および温湯処理後, 速やかに三角フラスコ内の SDW を捨て, 急冷する目的で種子を常温の SDW で 2 回洗浄した。

5. 菌数の計測

超音波および温湯処理後, アルファルファおよびカイワレ大根種子 5 g を滅菌ストマッキング袋に加え, 0.1% ペプトン水 45 ml を加え, ストマッカー処理を 1 分間行った。また, 緑豆 5 g を滅菌ホモジナイザーカップに加え, 0.1% ペプトン水 45 ml を加え, ホモジナイザーで 1 分間処理した。ストマッカー処理またはホモジナイザー処理で均一にされた試料乳剤を必要に応じて 10 倍段階希釈した。試料乳剤と各 10 倍段階希釈液 1 ml を滅菌シャーレに接種し, TSAN 15~20 ml を加えて混釈し, 37°C で 24 時間培養後, 発育した集落を計測した。さらに, 発育した集落を 0.5 μg/ml ナリジクス酸加 Bismuth Sulphite Agar (BSAN, BBL/Difco) に画線塗抹し, 37°C で 24 時間培養後, 黒色集落を SE とした。また, SE 菌数が 10 cfu/g 以下になった場合に SE の確認を行った。アルファルファ種子ではストマッカー処理後のストマッカー袋を 37°C で 24 時間培養し, 緑豆では試料乳剤 1 ml を TSBN 5 ml に加え, 37°C で 24 時間培養した。その培養液 1 ml に TSAN 15~20 ml を加えて混釈し, 37°C で 24 時間培養し, 発育した集落の有無を確認した。発育した集落を BSAN に画線塗抹し, 37°C で 24 時間培養後, 発育した黒色集落で SE を確認した。

Table 2. Combined effect of heat and ultrasound treatments in *Salmonella* Enteritidis on mung bean seeds

Temperature (°C)	Time (min)	Hot water			Hot water+Ultrasound			(B)–(A) (log ₁₀ cfu/g)
		Population ^a (log ₁₀ cfu/g)	Reduction ^b (A) (log ₁₀ cfu/g)	Germination (%)	Population ^a (log ₁₀ cfu/g)	Reduction ^b (B) (log ₁₀ cfu/g)	Germination (%)	
Control		5.04		98.0				
25	5				3.40	1.64	97.5	
	10				2.48	2.56	97.7	
	20				2.52	2.52	98.1	
55	5	3.27	1.77	98.0	1.60	3.44	98.0	1.67
	10	2.56	2.48	98.1	1.30(1) ^c	3.74	97.4	1.26
58	5	2.48	2.56	98.0	0.47(2) ^c	4.57	97.9	2.01
	10	1.92	3.12	98.1	0 ^d (3) ^c	5.04	97.6	1.92
60	5	1.36(1) ^c	3.68	97.8	0 ^d (3) ^c	5.04	97.1	1.36
	10	1.05(1) ^c	3.99	97.6	0 ^d (3) ^c	5.04	97.5	1.05

^a Mean value of three replicated experiments.^b Within the same seed condition, log₁₀ reduction compared with the number recovered on TSAN from control.^c The number of experiments in which no colonies were detected.^d Values are <10 cfu/g.Table 3. Combined effect of heat and ultrasound treatments in *Salmonella* Enteritidis on radish seeds

Temperature (°C)	Time (min)	Hot water			Hot water+Ultrasound			(B)–(A) (log ₁₀ cfu/g)
		Population ^a (log ₁₀ cfu/g)	Reduction ^b (A) (log ₁₀ cfu/g)	Germination (%)	Population ^a (log ₁₀ cfu/g)	Reduction ^b (B) (log ₁₀ cfu/g)	Germination (%)	
Control		6.54		97.5				
25	5				5.99	0.55	96.3	
	10				5.86	0.68	97.5	
	20				5.83	0.71	94.1	
58	5	5.32	1.22	96.4	5.43	1.11	97.5	–0.11
	10	4.97	1.57	97.5	4.48	2.06	96.2	0.49
60	5	5.04	1.50	93.0	4.64	1.90	96.4	0.40
	10	3.56	2.98	84.6	3.28	3.26	83.3	0.28
63	5	3.79	2.75	84.0	4.04	2.50	89.3	–0.25
	10	2.74	3.80	26.5	2.70	3.84	43.1	0.04
65	5	2.38	4.16	39.2	2.23	4.31	40.0	0.15
	10	1.65	4.89	9.8	2.38	4.16	15.1	–0.73

^a Mean value of three replicated experiments.^b Within the same seed condition, log₁₀ reduction compared with the number recovered on TSAN from control.

6. 発芽率の評価

超音波および温湯処理後の種子約 100 粒をシャーレ上に敷いた脱脂綿に静置した。脱脂綿が乾燥しないように蒸留水を十分加えて、種子を暗所 (30°C) で栽培し、2 日後に発芽した種子の割合を測定した。

7. SE 菌液に対する超音波処理

ナリジクス酸耐性を付与した SE 菌液 (3.00 log₁₀ cfu/ml) 10 ml を滅菌試験管 (外径 16.5 mm) に加えた。超音波処理は波長可変式の超音波洗浄器 (サンパ W-113 型, 本多電子(株)) で, 28, 45 および 100 kHz の波長でそれぞれ 5, 10, 20 および 40 分間行った。超音波処理後の菌液 1 ml に TSA 15~20 ml を加えて混釈し, 37°C で 24 時間培養して, 発育した集落を計測した。

8. 常在菌に対する超音波と温湯処理の併用効果

超音波と温湯処理の併用により, 接種した SE を 10

cfu/g 以下まで低減させ, かつ発芽率の低下が認められない条件において, 種子の常在菌に対する殺菌・除菌効果を検証した。SE を接種しないアルファルファ種子および緑豆 5 g を滅菌三角フラスコに採取し, 水洗浄のみでは SDW 20 ml で 30 秒間の洗浄を 3 回行った。また, 超音波と温湯処理の併用では, アルファルファ種子は 60°C で 5 分, 緑豆は 58°C で 10 分, 60°C で 5 および 10 分間の処理後, SDW で 30 秒間の洗浄を 1 回行った。それぞれの種子をストマッカー処理またはホモジナイザー処理して試料乳剤を作製した。その試料乳剤 1 ml に TSA 15~20 ml を加えて混釈し, 37°C で 48 時間培養後, 発育した集落の有無を確認した。それぞれ 10 回の試験を行い, 発育した集落が認められた試験の回数を数えた。

Table 4. Population of *Salmonella* Enteritidis following ultrasound treatment

Time (min)	Population ($\log_{10}$ cfu/ml) ^{a)}		
	28 kHz	45 kHz	100 kHz
0 (Control)	3.00	3.00	3.00
5	3.04	2.92	2.99
10	2.99	2.97	3.08
20	3.11	3.08	3.04
40	3.04	2.94	3.00

^a Mean value of three replicated experiments.

結 果

未接種のアルファルファ種子、緑豆およびカイワレ大根種子からのSE検出は認められなかった。また、TSANで発育した集落は、接種したSEであることを確認した。

アルファルファ種子の超音波および温湯処理におけるSE菌数の低減をTable 1に示す。25℃、20分間の超音波処理におけるSE菌数は、5.88から4.20 $\log_{10}$ cfu/gになり、1.68 $\log_{10}$ cfu/g低減された。また、60℃、10分間の温湯処理におけるSE菌数は、5.88から1.00 $\log_{10}$ cfu/gになり、4.88 $\log_{10}$ cfu/g低減された。一方、60℃で5および10分間の超音波と温湯処理では、10 cfu/g以下までSE菌数は低減され、温湯処理のみの60℃で5および10分間と比較した場合、それぞれ1.22および1.00 $\log_{10}$ cfu/g低く計測された。しかし、超音波と温湯処理の併用処理後の試料乳剤を増菌培養した結果、SEが検出されたことから、超音波と温湯処理を併用した場合でも、SEの完全な殺菌・除菌は困難であることが明らかにされた。

5分間の超音波と温湯処理の併用によるアルファルファ種子の発芽率は、コントロールの85.0%に対して55℃で83.7%、58℃で86.9%、60℃で83.9%であり、各温度における発芽率の差は認められなかった。一方、10分間の超音波と温湯処理の併用による発芽率は、55℃では70.0%、58℃では65.2%とやや低下し、60℃では33.1%と著しく低下した。したがって、60℃で5分間、超音波と温湯処理を併用することで、SE菌数は5.88 $\log_{10}$ cfu/gから10 cfu/g以下まで低減され、発芽率の低下も認められなかった。

緑豆の超音波および温湯処理におけるSE菌数の低減をTable 2に示す。25℃、20分間の超音波処理におけるSE菌数は、5.04から2.52 $\log_{10}$ cfu/gになり、2.52 $\log_{10}$ cfu/g低減された。また、60℃、10分間の温湯処理におけるSE菌数は、5.04から1.05 $\log_{10}$ cfu/gになり、3回の試験のうち1回10 cfu/g以下まで低減された。一方、超音波と温湯処理を併用した場合には、58℃で10分間、60℃で5および10分間では、SE菌数は5.04 $\log_{10}$ cfu/gから10 cfu/g以下になり、温湯処理のみと比較した場合、それぞれ1.92、1.36および1.05

$\log_{10}$ cfu/g低く計測された。試料乳剤を増菌培養した結果、SEは検出され、緑豆においてもSEを完全に殺菌・除菌することは困難であった。

緑豆の発芽率は、超音波と温湯処理の併用した場合、5分間ではコントロールの98.0%に対して55℃で98.0%、58℃で97.9%、60℃で97.1%であり、温度における発芽率の差は認められなかった。また、10分間の超音波と温湯処理の併用による発芽率も、55℃で97.4%、58℃で97.6%、60℃で97.5%であり、発芽率の差は認められなかった。

カイワレ大根種子の超音波および温湯処理におけるSE菌数の低減をTable 3に示す。カイワレ大根種子の予備実験において、60℃、10分間の超音波と温湯処理を併用した場合でも、SEは3.0 $\log_{10}$ cfu/g検出したため、温湯の温度は25、58、60、63および65℃で行った。65℃、10分間の温湯処理におけるSE菌数は、6.54から1.65 $\log_{10}$ cfu/gになり、4.89 $\log_{10}$ cfu/g低減された。超音波と温湯処理を併用した場合、65℃で5分間および10分間では、SE菌数は6.54 $\log_{10}$ cfu/gから、それぞれ2.23および2.38 $\log_{10}$ cfu/gになったが、10 cfu/g以下まで低減させることはできなかった。また、超音波と温湯処理の併用による65℃、10分間処理では、65℃、10分間の温湯処理におけるSE菌数の1.65 $\log_{10}$ cfu/gより、0.73 $\log_{10}$ cfu/g多く計測され、超音波と温湯処理の併用効果は認められなかった。

カイワレ大根種子の発芽率は、65℃で5および10分間の超音波と温湯処理ではコントロールの97.5%から、それぞれ40.0および15.1%に低下し、発芽率の低下なくしてSE菌数を低減させることは困難であった。

SE菌液に対する超音波処理によるSE菌数の変化をTable 4に示す。超音波の波長28、45および100 kHzの40分間におけるSE菌数は、それぞれ3.04、2.94および3.00 $\log_{10}$ cfu/gとなった。したがって、SE菌液には超音波処理によるSEの低減は認められなかった。

アルファルファ種子および緑豆の超音波と温湯処理の併用における常在菌の殺菌・除菌効果をTable 5に示す。アルファルファ種子の超音波と温湯の60℃で5分間処理では、常在菌の発育は10回のうち9回認められた。また、緑豆の常在菌の発育は、超音波と温湯の58℃で10分間処理では10回のうち8回、60℃で5分間では10回中9回、60℃で10分間では10回中6回認められた。これらの結果から、アルファルファ種子および緑豆ともに、超音波と温湯処理の併用によって、常在菌に対する完全な殺菌・除菌効果は認められなかった。

考 察

超音波と温湯処理の併用によって、種子の発芽率を低下させずに、アルファルファ種子ではSE菌数を5.88 $\log_{10}$ cfu/gから10 cfu/g以下に、緑豆では5.04 $\log_{10}$ cfu/gから10 cfu/g以下に低減された。SE菌液に対し

ては、超音波処理による SE の低減効果は認められなかった。また、55, 58, 60, 63 および 65°C, 10 分間の超音波処理による温湯の温度上昇は認められず、超音波処理の温度上昇による SE 菌数の低減はなかった。したがって、超音波と温湯処理を併用した場合に、温湯処理のみと比較して SE 菌数が少なく計測されたのは、超音波によって種子から SE を離脱させたことが、温湯処理による SE 低減効果を高めたと考えられた。

超音波処理が発芽率に与える影響については、25°C で 20 分間であれば、アルファルファ種子、緑豆およびカイワレ大根種子の発芽率を低下させることはなかった。したがって、アルファルファやカイワレ大根種子の発芽率の低下は、温湯処理が原因であると考えられた。温湯処理による発芽率の低下については、アルファルファ種子の 21, 54, 57 および 60°C で 5 分間の温湯処理では、発芽率を低下させないという報告⁷⁾があり、本実験結果とほぼ一致するものであった。一方、55°C で 5 分間の温湯処理で、アルファルファ種子の発芽率が低下するという報告¹⁶⁾もある。このような相違の原因は、種子の品種、発芽温度または保存状態の違いによって起こりうると考えられる。また、マメ科種子は硬実¹³⁾であるため、一斉に発芽しにくい種子であることも原因であると推測された。今後、栽培条件による発芽率の違いなどを検証する必要性が認められた。

種子によって SE の低減効果に差が認められたのは、種子表面の性質や種子の大きさの違いが原因でないと推測された。アルファルファや緑豆のようなマメ科の種子は、他の種子と比較して種子が堅く、外被が不透水性である¹³⁾。そのため、SE 菌液に種子を 1 分間浸漬する接種方法では、SE は種子内部にまで十分浸透せず、種子の表面の汚染に限られたことが、超音波と温湯処理の併用による SE の低減効果を高めたと考えられた。一方、アブラナ科のカイワレ大根種子では、SE 菌液が種子の生理的な吸水によって種子内部に浸透し、菌数低減を困難にしたと考えられた。カイワレ大根種子には、おそらく放射線照射のような方法^{3, 12)}でないと十分な菌数低減はできないと思われた。したがって、栽培現場において種子による微生物危害を防止するには、栽培する種子の性質を十分理解して、適切な菌数低減の方法と条件を選択して行うことが重要である。

アルファルファ種子および緑豆において、超音波と温

湯処理を併用しても、種子の常在菌は完全に殺菌・除菌できなかった。また、常在菌が緑豆の殻の内側に付着している¹⁴⁾ことから、超音波と温湯処理の併用によっても種子内部に存在している常在菌の殺菌・除菌は困難であったことが一因であると考えられた。このことから、接種した SE と同様に種子の常在菌を完全に殺菌・除菌することは非常に困難であると考えられた。しかし、超音波と温湯処理の併用で接種した SE が低減されたことから、種子の常在菌も低減されることが考えられ、種子の貯蔵期間の短縮や栽培中の腐敗などのリスクを低下することは可能であると考えられた。

種子による微生物危害を減少させるために塩素水のほかにオゾン水¹⁷⁾、焼成カルシウム製剤²⁾、アリルイソチシアネート¹⁵⁾、アンモニアガス⁶⁾を用いた種子殺菌が試みられている。しかし、これらの殺菌剤を用いた方法は、作業者の健康被害や環境汚染が懸念される。一方、超音波処理は適切な方法で使用する限り大きな危険はなく、栽培現場で働く作業者にとって安全な方法である。超音波処理は温湯と殺菌剤との併用¹⁶⁾により、低温あるいは低濃度によって、安全で環境にやさしい微生物危害減少の一助になると考えられた。しかし、栽培現場では超音波装置の騒音問題への対策や装置の大型化から、実用可能な超音波装置の開発が必要である。

栽培現場では種子を大量に扱うため、原料種子の中には傷ついた種子や割れた種子などの不良種子が混入する可能性がある。また、アルファルファ種子は一斉に発芽させるために、種子に傷を付けるなどの予措を行う¹³⁾。このような場合、種子は汚染されやすくなり、かつ病原菌を低減させることは困難になる⁷⁾。さらに、超音波と温湯処理の併用で SE 菌数が 10 cfu/g 以下を示したアルファルファ種子の 60°C で 5 分間、緑豆の 58°C で 10 分間、60°C で 5 および 10 分間の超音波と温湯処理でも、増菌培養で SE は検出されたことから、完全な殺菌・除菌は非常に困難であることを念頭に置かなければならない。加えて、栽培現場では種子による微生物危害だけでなく、灌漑水からの微生物危害、栽培施設からの微生物危害など広範囲の要因が考えられる⁹⁾。したがって、栽培現場における殺菌・除菌の目的は、あくまで食中毒のリスク低減化にあり、殺菌・除菌だけ行えば食中毒の心配は必要ないという考えは否定される。生産現場における微生物危害の防止は、原料種子の効果的な殺

Table 5. Effect of ultrasound treatment on native microflora on alfalfa and mung bean seeds

	The detected number				
	Control	Rinse	58°C; 10 min	60°C; 5 min	60°C; 10 min
Alfalfa	^{a)} 10/10	10/10 ^{b)}		9/10	
Mung bean	10/10	10/10	8/10	9/10	6/10

^{a)} The number of experiments in which native microflora were detected.

^{b)} The number of experiments.

菌・除菌を行うとともに、原料種子の選別や汚染されたロットを早期に検出する技術¹¹⁾の導入、栽培現場の作業者への教育、あるいは流通過程の適切な管理など、原料種子の1次生産から芽物野菜の消費まで総合的な視野に立った方策を実施していくことが欠かせない。

要 約

人工的に *Salmonella* Enteritidis (SE) を汚染させたアルファルファ種子、緑豆およびカイワレ大根種子に、超音波と温湯処理を併用して SE の低減効果を検証した。アルファルファ種子の 60℃ で 5 分間、緑豆の 58℃ で 10 分間、60℃ で 5 および 10 分間の超音波と温湯処理の併用で、種子の発芽率を低下させることなく、SE を 5.0 log₁₀ cfu/g 低減させることができた。その種子の増菌培養によって、SE は検出されたことから、SE を完全に殺菌・除菌することは困難であった。一方、カイワレ大根種子では 60℃、5 分間の超音波と温湯処理の併用によって、SE は 1.90 log₁₀ cfu/g しか低減されなかった。したがって、カイワレ大根種子では、超音波と温湯処理の併用によっても、発芽率を低下させることなく効果的に SE を低減させることは困難であった。以上から、アルファルファ種子や緑豆における超音波と温湯処理の併用は、SE 低減法として効果的であると考えられた。

文 献

- 1) Adelberg, E. A., Mandel, M. and Chen, G. C. C.: Optimal conditions for mutagenesis by *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine in *Escherichia coli* K12. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **18**, 788-795 (1965).
- 2) Bari, M. L., Kusunoki, H., Furukawa, H., Ikeda, H., Isshiki, K. and Uemura, T.: Inhibition of growth of *Escherichia coli* O157:H7 in fresh radish (*Raphanus sativus* L.) sprout production by calcinated calcium. *J. Food Prot.*, **62**, 128-132 (1999).
- 3) Bari, M. L., Nazuka, E., Sabina, Y., Todoriki, S. and Isshiki, K.: Chemical and irradiation treatments for killing *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa, radish, and mung bean seeds. **66**, 767-774 (2003).
- 4) Beuchat, L. R. and Scouten, A. J.: Combined effects of water activity, temperature and chemical treatments on the survival of *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa seeds. *J. Appl. Microbiol.*, **92**, 382-395 (2002).
- 5) 病原性大腸菌 O157 対策本部: 堺市学童集団下痢症の原因究明について (調査結果まとめ). *食品衛生研究*, **46** (12), 7-28 (1996).
- 6) Himathongkham, S., Nuanualsuwan, S., Riemann, H. and Cliver, D. O.: Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium in artificially con-

taminated alfalfa seeds and mung beans by fumigation with ammonia. *J. Food Prot.*, **64**, 1817-1819 (2001).

- 7) Holliday, S. L., Scouten, A. J. and Beuchat, L. R.: Efficacy of chemical treatments in eliminating *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 on scarified and polished alfalfa seeds. *J. Food Prot.*, **64**, 1489-1495 (2001).
- 8) Jaquette, C. B., Beuchat, L. R. and Mahon, B. E.: Efficacy of chlorine and heat treatment in killing *Salmonella stanley* inoculated onto alfalfa seeds and growth and survival of the pathogen during sprouting and storage. *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**, 2212-2215 (1996).
- 9) 小西典子, 甲斐明美, 松下 秀, 野口やよい, 高橋由美, 関口恭子, 新井輝義, 諸角 聖, 小久保彌太郎: 有機・水耕栽培野菜の食中毒菌汚染実態と分離菌株の疫学的解析. *日食微誌*, **18**, 9-14 (2001).
- 10) National advisory committee on microbiological criteria for Foods: Microbiological safety evaluations and recommendations on sprouted seeds. *Int. J. Food Microbiol.*, **52**, 123-153 (1999).
- 11) 名塚英一, 川崎 晋, 稲津康弘, 一色賢司: Micro Foss 大腸菌検出法による芽物野菜栽培の衛生管理の試み. *日本食品保全研究会報*, **8**, 15 (2002).
- 12) 名塚英一, Bari, M. L., 等々力節子, 一色賢司: 芽物野菜種子からの大腸菌 O157:H7 除去のための超音波処理, 乾熱処理および放射線照射の利用. 第 23 回日本食品微生物学会講演要旨集, p. 34 (2002).
- 13) 野口弥吉, 川田信一郎監修: 休眠と発芽. 第 2 次増訂改訂農学大事典. p. 896-905, 養賢堂発行, 東京 (1987).
- 14) 奥田舜治, 青木正人, 菊野理津子, 西村民男, 名雲照一: 無菌もやしの調整およびそれによるもやし腐敗菌の同定. *防菌防黴*, **22**, 711-715 (1994).
- 15) Park, C. M., Taormina, P. J. and Beuchat, L. R.: Efficacy of allyl isothiocyanate in killing enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa seeds. *Int. J. Food Microbiol.*, **56**, 13-20 (2000).
- 16) Scouten, A. J. and Beuchat, L. R.: Combined effects of chemical, heat and ultrasound treatments to kill *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa seeds. *J. Appl. Microbiol.*, **92**, 668-674 (2002).
- 17) Sharma, R. R., Demirci, A., Beuchat, L. R. and Fett, W. F.: Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 on inoculated alfalfa seeds with ozonated water and heat treatment. *J. Food Prot.*, **65**, 447-451 (2002).
- 18) 種田耕蔵: 新しい食品殺菌技術の動向と期待される酸性電解水への課題. *食品工業*, **45**(12), 26-34 (2002).
- 19) Taormina, P. J. and Beuchat, L. R.: Behavior of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa sprouts during the sprouting process as influenced by treatments with various chemicals. *J. Food Prot.*, **62**, 850-856 (1999).