

市販水耕栽培野菜の微生物分布について

星野浩子・高村一知・林 秀志*・浦上逸男*

Distribution of Microorganism in the Commercial Vegetables Produced by Hydroponics.

HIROKO HOSHINO, KAZUNORI TAKAMURA, HIDESHI HAYASHI* and ITUO URAKAMI*

1. Vegetables produced by hydroponics on the commercial (kaiware-daikon, mitsuba and sarada-na) have been examined concernig with the distribution of microorganism.

The resules of the test : general viable count $10^4 \sim 10^7 / 100g$

coliform bacilli count $10^3 \sim 10^7 / 100g$

heat resistance spore count $0 \sim 37 / 100g$

2. Underground water, mediumdia and the seeds of kaiware-daikon have been examined in the same way.

The results of the test : general viable count $10^3 \sim 10^4 / 100ml$

coliform bacilli count $0 \sim 3 / 100ml$

general viable count $10^4 / 100g$ (the seeds of kaiware-daikon)

general viable count $10^4 / 100g$ (the inside of the seeds sterilized 70% ethyl alcohol)

緒 言

わが国の野菜生産手段としての水耕栽培は、1946年米軍により調布と大津に礫耕による大規模な設備で開始されたが、残根処理と礫の取扱上の難点からあまり普及には至らなかった。その後、1960年代終わりから70年代にかけて礫を使用しない水耕が相次いで発表されたが、まだまだ設備も重装備であったため、大きくは普及しなかった。

1980年代初期に簡単な改良型NFT (Nutrlent Film Technique) やロックウール栽培が紹介され現在のよう急激な普及となった^{1,5)}。

水耕栽培の急激な普及をもたらしたのは、水耕栽培の技術面だけでなく、わが国の食生活の変化によるところが大きい。それは、近年の野菜消費が食生活の欧米化に伴って、昔ながらの煮物料理や漬物に使用する野菜の消費が停滞し、生野菜の消費が主体となる葉菜類および果菜類の消費の伸びが大きくなってきたことも影響している。

この水耕栽培により生産された葉菜類で現在市場に出回っているおもなものは、カイワレ大根、ミツバ、サラダ菜などであるが、これらの水耕栽培野菜を衛生面から見ると、露地野菜と異なり土壌等の汚れもない、かわり

*千代田工販株式会社

〒104 東京都千代田区銀座2-11-8

*CHIYODA KOHAN CO., LTD.

Key words : ①distribution of microorganism, ②hydroponics ③mediumdia, ④underground water, ⑤vegetables ⑥seeds of kaiware-daikon, ⑦kaiware-daikon ⑧mitsuba, ⑨sarada-na

にこれらの野菜は、強く洗浄すると商品価値が落ちるので十分な洗浄がなされない場合が多く、微生物汚染が考えられる。

一方、水耕栽培の栽培環境も培養液温度が23~25°C、肥料液の成分も硝酸態窒素とアンモニア態窒素でpHも中性の7で、微生物の生育条件が整っている。このように市販されている水耕栽培野菜は、一見衛生面では問題はないように思われるが、これらの水耕栽培野菜の微生物分布についての報告はほとんど見られないので、今回市販水耕栽培野菜特に葉菜類の衛生微生物調査として、一般生菌数、大腸菌群検査等について測定を行ない、同時に水耕栽培に使用する種子、地下水および培養液の微生物分布についても測定を行なったので報告する。

実験方法

I 供試料

昭和63年10月に東京地区のスーパーマーケット10店舗で販売されていたカイワレ大根、ミツバおよびサラダ菜を用いた。

また、水耕栽培に使用する地下水、培養液およびカイワレ大根種子は、千葉県下の水耕栽培農家より譲与されたものを供試料とした。

II 生菌数測定

食品衛生検査指針⁴⁾の生菌数測定法に準拠して実施した。

各野菜の可食部について無洗浄のものと、流水中で20秒間洗浄し、充分水切りをしたのち殺菌した包丁とまな板を用い、試料を適当な大きさに切ったのち、無菌的に10g計り滅菌したホモカップに入れ、滅菌生理的食塩水90mlを加えて約5分間ワーリングブレンダーで磨砕均一化し試料原液とした。

この原液を菌数が測定可能まで滅菌生理的食塩水で希釈し、その0.1mlを生菌数測定用標準寒天培地に落とし、滅菌コンラージ棒で表面一面に塗抹し、35±1°C、48±3時間培養したのち出現したコロニーを数えて菌数を算定した。

各野菜の可食部について、野菜の表面を70%アルコール綿で拭き取り、滅菌生理的食塩水で2回洗浄し、70%アルコールの野菜表面殺菌効果試験用試料と野菜内部の生菌数測定用試料とした。生菌数測定法は前記と同様に行なった。

地下水および培養液は、原液または菌数測定可能まで滅菌生理的食塩水で希釈し、生菌数測定法は前記と同様に行なった。

カイワレ大根種子10gを、滅菌乳鉢にて磨砕し90ml滅菌生理的食塩水を加えて、均質乳状化し、一般生菌数測定および大腸菌群測定用原液とした。また、種子を70%アルコール100ml中で5分間浸潤させ、滅菌生理的食塩水100mlに2回浸漬させ、70%アルコールを充分とり除き、種子を取り出し滅菌乳鉢に入れて磨砕し、90ml滅菌生理的食塩水を加えて均質乳状化し、70%アルコールの種子表面殺菌効果試験用試料とし、生菌数測定法は前記と同様に行なった。

III 大腸菌群数測定およびE.coli数測定

BGLB培地にMerck社製の蛍光性基質使用大腸菌(E.coli)検出用培地Fluorocult(Brilliant-green bile broth)(表. 1)を追加使用した。

Iの生菌数測定法に従って得られた試料原液を常法通り5段階希釈し、各々3本ずつ培地に接種し、35±1°C、24±2時間培養し、ガスの発生が認められたものを大腸菌群のMPN算出法に基づいて菌数を算定した。

また、E.coliの測定はBGLB発酵管にてガス発生を認めたものについて、暗所にて365nmの長波長を試験管にあて、4-methylumbelliferoneの蛍光を発したものを、E.coli陽性とし、大腸菌群のMPN算出法を代用し、E.coli数を求めた。なおE.coli陽性と認めた試験管については、大腸菌群用EMB培地に塗抹し、コロニーの中心部が黒色で黄金色の金属光沢を示すことも確認した。

表. 1 Fluorocult (Brilliant-green bile broth) の組成

ペプトン	10.0g
ラクトース	10.0g
牛胆汁 (乾燥)	20.0g
ブリリアントグリーン	0.01333g
L-トリプトファン	1.0g
4-methylumbelliferyl- β -D-gulcuronide	0.1g
H ₂ O	1000ml
pH7.2 \pm 0.1	

水1000mlに対して41g溶解し、オートクレーブ (15分, 121°C) を行ない用いる。

IV 耐熱性芽胞菌数測定

I の生菌数測定法に従って得られた試料原液を、滅菌試験管に入れ前報の実験結果より、80 \pm 1°C、20分間加熱したのち、滅菌生理的食塩水で希釈し、生菌数測定用標準寒天培地に0.1ml落とし滅菌コンラージ棒で表面一面に塗抹し、35 \pm 1°C、48 \pm 3時間培養した。出現したコロニーを数えて菌数を算定した。

結果および考察

I 市販水耕栽培野菜の微生物分布

表. 2 に市販水耕栽培野菜のカイワレ大根、ミツバおよびサラダ菜の一般生菌数、大腸菌群数、E.coli数および耐熱性芽胞菌数を示した。

一般生菌数は100g中に無洗浄野菜で10⁴~10⁷個、流水中で20秒洗浄した場合で10³~10⁵個存在していた。大腸菌群数では無洗浄野菜で10³~10⁷個、水洗野菜で10³~10⁶個であった。そのうち大腸菌群のE.coli数はほとんどの試料が陰性を示したが、カイワレ大根2検体より100g中10²~10³個陽性であった。水耕栽培野菜の一般生菌数と大腸菌群数の結果を露地栽培野菜と比較すると、一般生菌数および大腸菌群数とも10⁴~10⁷個とあまり大差はなかった。耐熱性芽胞菌は0~37個と露地栽培野菜に比較して、水耕栽培野菜が少なかった。

野菜の無洗浄と水洗いについて比較してみると、水洗することにより一般生菌数の減少

表. 2 市販水耕栽培野菜の微生物分布

(/100g)

試料	条件	一般生菌数	大腸菌群数	E.coli数	耐熱性芽胞菌数
カイワレ大根	無洗浄	9.6 \times 10 ⁴ ~1.4 \times 10 ⁷	1.4 \times 10 ⁴ ~4.6 \times 10 ⁶	陽性*	1~37
	水洗	4.3 \times 10 ⁴ ~9.0 \times 10 ⁵	1.4 \times 10 ³ ~2.0 \times 10 ⁶	陽性*	2~4
ミツバ	無洗浄	5.0 \times 10 ⁴ ~1.4 \times 10 ⁷	1.5 \times 10 ³ ~4.6 \times 10 ⁴	陰性	0
	水洗	1.6 \times 10 ⁴ ~2.0 \times 10 ⁵	1.4 \times 10 ³ ~4.6 \times 10 ⁴	陰性	0~2
サラダ菜	無洗浄	2.0 \times 10 ⁴ ~6.8 \times 10 ⁶	1.2 \times 10 ⁴ ~1.4 \times 10 ⁷	陰性	0~4
	水洗	6.0 \times 10 ³ ~2.4 \times 10 ⁵	2.3 \times 10 ³ ~1.5 \times 10 ⁵	陰性	0~21

*10検体中2検体 (10²~10³/100g)

はあまりみられなかった。このことは水洗いによって野菜表面に付着している微生物を仮に全部洗浄したとして、残存する $10^3 \sim 10^4$ 個の微生物は、野菜内部に存在する可能性が考えられる。

II 水耕栽培農家の地下水および培養液の微生物分布

表. 3 に水耕栽培農家の地下水および培養液の微生物分布を示した。

地下水は一般性菌数 10^3 個、大腸菌群数はほとんど存在しなかった。培養液は1つの培養槽の長さが約20mで、その中を培養液が循環する型式だったので、3ヶ所より培養液を採取し、菌数を測定した結果、一般菌数 $10^3 \sim 10^4$ 個、大腸菌群数 $10^3 \sim 10^4$ 個であった。この結果、一般生菌数は表. 2 に示す水耕栽培野菜の菌数から考えると、約2倍程度存在するかと想像していたのに対し、比較的地下水および培養液中の菌数は少なかった。

このことは、水耕栽培野菜の微生物汚染は地下水および培養液以外に汚染原因が考えられる。また大腸菌群は地下水にはほとんど存在しないのに対し、培養液中に存在するということは農作業でのスポンジへの種子まき、数回にわたる移植作業などに従事する人間の手指からの汚染が原因であると考えられる。

表. 3 ミツバ水耕栽培農家の地下水および培養液の微生物分布 (／100ml)

試料	一般生菌数	大腸菌群数
地下水	1.5×10^3	3
	1.6×10^4	0
培養液	前 4.3×10^3	1.5×10^4
	中 2.5×10^3	9.3×10^3
	後 2.1×10^4	3.4×10^3

III 70%アルコールによる野菜表面および種子表面の一般生菌数、大腸菌群数の殺菌効果について

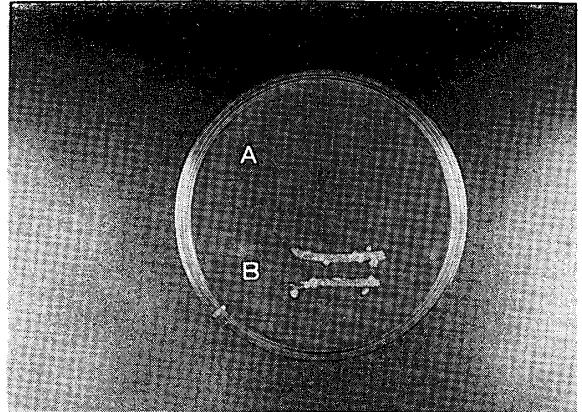


図. 1 70%アルコールによる野菜表面の殺菌効果 (標準寒天培地) カイワレ大根茎 A. 表面 B. 茎縦断面

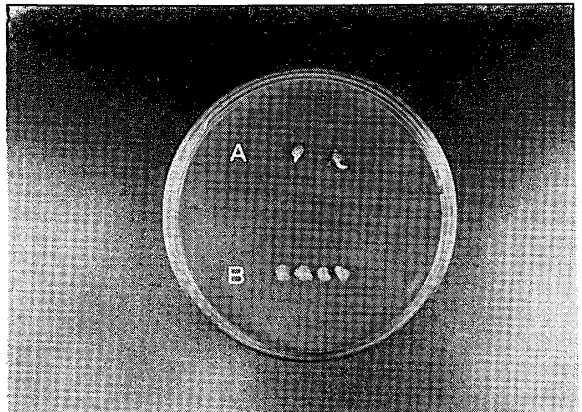


図. 2 70%アルコールによる種子表面の殺菌効果 (標準寒天培地) カイワレ根種子 A. 種子表面 B. 種子断面

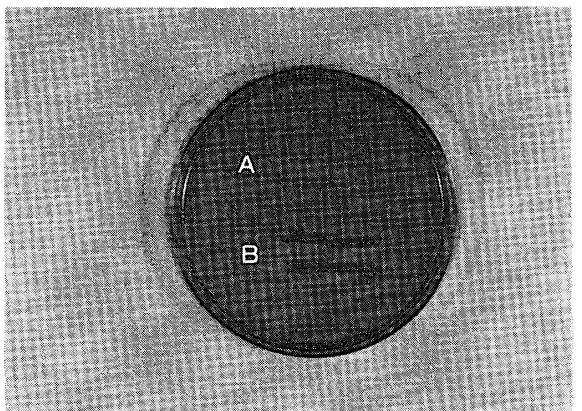


図. 3 70%アルコールによる野菜表面の殺菌効果 (デスオキシコーレイト寒天培地) カイワレ大根茎 A. 表面 B. 茎縦断面

図1, 2, 3はIIの実験方法により得られた野菜茎部およびカイワレ大根種子試料を、図1, 2は生菌数測定用寒天培地上に、図3

はデスオキシコーライト寒天培地上に、スタンブ法に準拠して35°C、3日間培養を行なった結果である。

各図のAは表面を、そしてBは試料を縦断面に無菌的操作で切り、A部分の各培地上の野菜および種子周辺に微生物の増殖を認めないことから、両者の表面を70%アルコールで処理することにより、表面に付着している一般生菌、大腸菌群を殺菌することができた。野菜および種子表面は比較的凹凸があるので浸透性のある70%アルコールを用いることにより、良好な結果が得られたものとする。

また、図1, 2, 3のBからコロニーが観察されたことは、野菜内部および種子内部に一般生菌と大腸菌群が分布していることを示唆しているため、次の実験を行なった。

IV 市販水耕栽培野菜内部の微生物分布

表. 4 に市販水耕栽培野菜の表面を70%アルコール綿で拭き取った時の野菜内部の微生物分布について示した。

一般生菌数および大腸菌群数は、前者は $10^3 \sim 10^4$ 個、後者は $10^2 \sim 10^4$ 個分布していた。一般生菌数、大腸菌群数を表. 2の結果と比較すると、水耕栽培野菜の微生物汚染はその大半が野菜内部に存在することがわかった。

これは尾上ら⁶⁾がキャベツの大腸菌群の殺菌方法として、高濃度の次亜塩素酸ナトリウム溶液200ppmに60分間、浸漬しても野菜由来と考える大腸菌群を陰性とすることは困難であったと報告していることから理解できる。

表. 4 市販水耕栽培野菜内部の微生物分布 (／100g)

試料	一般生菌数	大腸菌群数
カイワレ大根	1.7×10^4	1.4×10^4
ミツバ	1.0×10^3	2.3×10^2
サラダ菜	4.6×10^3	1.5×10^4

V 水耕栽培野菜種子および種子内部の微生物分布

表. 5 に水耕栽培野菜種子および種子内部の微生物分布について示した。

その結果、大腸菌群は存在しないのに対し、一般生菌数は無洗浄で 10^4 個であった。また、種子内部の菌数を測定した結果 10^4 個存在していた。これは無洗浄でも 10^4 個、表面を殺菌した場合でも 10^4 個という結果から、種子の微生物分布はほとんど種子内部に存在することを確認できた。このことは後藤ら²⁾の実験的無菌もやしの報告と一致する。

表. 5 水耕栽培野菜種子および種子内部の微生物分布 (／100g)

試料	一般生菌数	大腸菌群数
カイワレ大根種子	無洗浄	1.6×10^4
	内部	1.5×10^4

表. 3, 4 および表. 5の結果から、水耕栽培野菜の微生物汚染の原因は、一般生菌数では種子、地下水および培養液であることが確認できた。このことから微生物分布の少ない水耕栽培野菜を生産するには、種子と地下水および培養液の殺菌を実施することが必要であるということがわかった。

また、大腸菌群数は、表. 3, 5の結果から地下水および種子には存在せず、農作業の人間の手指が関与する培養液に微生物が分布していることから、水耕栽培野菜生産農家の農作業に従事する作業員は、作業に着手する前に、殺菌剤で手指の消毒・殺菌を行なうことにより、大腸菌群数を減少させることが可能であると考えられる。

要 約

市販水耕栽培野菜カイワレ大根、ミツバおよびサラダ菜の微生物分布と、その汚染原因について研究を行なった。

1. 市販水耕栽培野菜の一般生菌数は無洗浄 $10^4\sim 10^7$ 個, 水洗 $10^3\sim 10^5$ 個であった。大腸菌群数は無洗浄 $10^3\sim 10^7$ 個, 水洗 $10^3\sim 10^6$ 個で, そのうちのカイワレ大根 2 検体よりE.coli陽性で100g中 $10^2\sim 10^3$ 個であった。耐熱性芽胞菌数は0~37個と比較的少なかった。

2. 千葉県下の水耕栽培農家の地下水および培養液の微生物分布を調査したところ, 地下水の一般生菌数は $10^3\sim 10^4$ 個であった。大腸菌群数は, ほとんど分布していなかった。培養液の一般生菌数は $10^3\sim 10^4$ 個であり, 大腸菌群は地下水には分布していないが, 培養液には $10^3\sim 10^4$ 個認められた。

3. 野菜および種子表面を70%アルコール処理することにより, 表面に付着している微生物は殺菌できた。

4. 市販水耕栽培野菜の表面を70%アルコールで拭き取り, 野菜内部の微生物分布を測定したところ, 一般生菌数 $10^3\sim 10^4$ 個, 大腸菌群数 $10^2\sim 10^4$ 個と, 市販水耕栽培野菜の水洗の時とほぼ同様の菌数であった。

5. 水耕栽培野菜に使用するカイワレ大根の種子の微生物分布について測定したところ, 無洗浄種子の一般生菌数は 10^4 個であった。

また, 種子内部の一般生菌数を測定したところ 10^4 個と無洗浄と同様の結果を示した。

この結果から, 水耕栽培野菜の微生物汚染の原因は, 一般生菌数では, 地下水, 培養液および種子内部に分布する微生物によるものと確認した。

本研究は第56回日本食品衛生学会静岡大会に発表しました。

文 献

- 1) 赤木静: 食研., **30**, 3 (1988).
- 2) 後藤喜一, 所光男: 防菌防ばい., **15**, 2, 55 (1987)
- 3) 星野浩子, 高村一知, 林 秀志, 浦上逸男, 日本食品衛生学会第56回学術講演会講演要旨集., **66** (1988).
- 4) 厚生省環境衛生局監修: 食品衛生検査指針 (I)., **103**~**119** (1979).
- 5) 並木隆和訳: 野菜の水耕栽培., **1** (1984).
- 6) 尾上洋一, 高橋孝則, 森 実: 食品衛生研究., **27**, 8, 758 (1977).
- 7) 高村一知, 星野浩子: 聖徳栄養短期大学紀要., **18**, 14 (1987).