

給食管理実習におけるサラダの 簡易細菌検査に基づく衛生評価

尾 関 百合子*, 米 浪 直 子*, 大 脇 真由美*

Evaluation of Microbiological Contamination in a Salad Cooking Process on Practical Training of Food Service

Yuriko Ozeki*, Naoko Komenami*, Mayumi Ohwaki*

Abstract

In order to prevent microbiological foodborne illness effectively, food must be prepared using the principles of the HACCP. It is necessary to assess microbiological contamination in the cooking process and give feedback in student education. In this report, we examined contamination in samples of fresh vegetables (cabbages, cucumbers, carrots), and in the samples of the vegetables after washing or steaming, boiled eggs, a salad dressing and cooked salads using the petrifilm plate method *Aerobic plate count (APC)*, *Coliforms*, and *Escherichia coli (E. Col.)*. The contamination level of the cooked salads was compared with the other salad products purchased in 2 department stores and a retail shop in Osaka prefecture. *E. Coli* was not detected from any sample. The values of *APC* in the fresh vegetables were $10^5 \sim 10^6$ CFU/g and the range for *Coliform* counts were $10 \sim 10^3$ CFU/g. Although the *APC* and *Coliform* counts were not reduced significantly after the washing process, the steaming process significantly decreased the *APC* and eliminated the *Coliforms*. *APC* in cooked salad was observed more than that in steamed vegetables because of possible secondary contamination with boiled eggs tainted by the contaminated hands and fingers of students. *Coliforms* were not detected in the cooked salad, the boiled eggs, or the salad dressing. However, *APC* in the cooked salad was significantly lower than that of the other salad products.

キーワード

給食管理実習、野菜、加熱調理、サラダ、簡易細菌検査

*おぜき ゆりこ：大阪国際大学短期大学部助教授

*こめなみ なおこ：大阪国際大学短期大学部助教授

*おおわき まゆみ：大阪国際大学短期大学部技術助手〈2002.11.18受理〉

I 緒言

野菜は土が付着している場合が多く、1996年から1997年にかけて野菜が原因食品と推察される腸管出血性大腸菌O157による食中毒が発生している³⁾。食中毒防止のためのHACCP(ハサップ)に基づく方法によれば、生野菜は次亜塩素酸ナトリウムで洗浄するように⁴⁾、また、学校給食では加熱処理をするように指導されており⁷⁾、本学の給食管理実習でも野菜は加熱処理を行っている。将来栄養士として指導的立場に立つ学生に、調理過程における衛生状態を把握させ、改善点を見つけさせることは教育上重要であると思われるので、今回はサラダに注目し、その材料となる野菜とその調理過程における衛生状態を評価するために簡易細菌検査を行った。細菌検査の方法はAOAC INTERNATIONALやアメリカ公衆衛生協会の承認・許可を受けており、従来法との相関性も良好であるペトリフィルム法⁹⁾¹⁰⁾を用い、一般生菌数、大腸菌、大腸菌群数を測定した。また、市販サラダとの比較も試みた。

II 実験方法

1. ミモザサラダの材料

平成14年7月3日(室温 $25.8 \pm 0.6^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $73.3 \pm 4.1\%$ 、8:30~11:30)に実施した給食献立(100食分)は表1に示した。前日納入され、検収を終えたサラダ材料のキャベツ、きゅうり、卵はそれぞれビニール袋に入れ、給食管理実習室の冷蔵庫(5℃以下)で保存、にんじんはザルに入れ、常温で保存した。

2. 試料の採取とミモザサラダの作成手順

試料の採取とミモザサラダの作成手順について図1に概略を示した。洗浄前、洗浄後、加熱後のキャベツ、きゅうり、にんじんからそれぞれ5.0gずつ無作為に3点採取した。洗浄操作を飲用適の流水で行った後、切碎した。加熱操作はスチームコンベクションオーブン(フジマックFCCP6G)を用い、100℃のスチームで加熱し、中心温度を測定後(表2)、直ちに飲用適の流水で冷却した。フレンチドレッシングはボール、泡たて器を用いて調整した試料を5.0gずつ3点採取した。卵は固ゆでにし、殻を除去した後、ボールの中でマッシャーを用いて砕いたものから、5.0gずつ3点採取した。サラダは Tongue でそれぞれの皿に盛り付け、無作為に3皿から5.0gずつ採取した。調理操作に用いた器具はすべて熱湯消毒後のものを使用した。試料は滅菌済みプラスチックまな板、ナイフ、ピンセット、ス

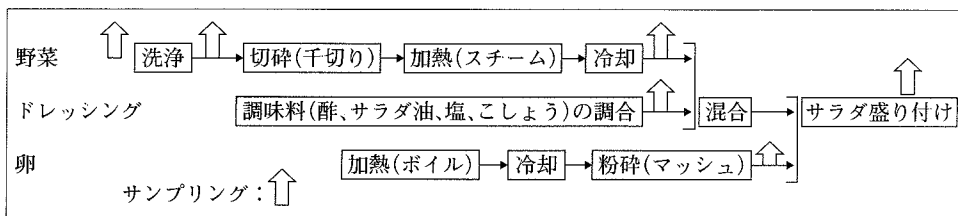


図1 試料の採取とミモザサラダの作成手順

給食管理実習におけるサラダの簡易細菌検査に基づく衛生評価

表1 実施献立 (平成14年7月3日)

給食管理実習Ⅰ 献立表		第7回 4班 平成14年 7月 3日 (水)							
献立名	食品名	分量 (g)		熱量 (Kcal)	蛋白質 (g)		脂肪 (g)	塩分 (g)	備考
		1人分	100人分		植物性	動物性			
白飯	精白米	80	8000	285	4.9	-	0.7	0	
	強化米	0.4	40	1	0	-	0	0	
	水	120	10400	-	-	-	-	-	
ポークカツ	豚ヒレ肉	80	8000	90	-	18.2	1.4	0.1	
	塩	1.2	120	0	0	-	0	1.2	
	コショウ	0.02	2	0	0	-	0	0	
	小麦粉	5	500	18	0.4	-	0.1	0	
	卵	4	400	6	-	0.5	0.4	0	
	水	4	400	-	-	-	-	-	
	パン粉	10	1000	37	1.5	-	0.7	0.1	
	揚げ油	10	1000	92	0	-	10.0	0	
	中濃ソース	10	1000	13	0.1	-	0	0.6	
	ブロッコリー	30	3000	10	1.3	-	0.2	0	
ミモザサラダ	キャベツ	40	4000	9	0.5	-	0.1	0	
	きゅうり	15	1500	2	0.2	-	0	0	
	人参	15	1500	6	0.1	-	0	0	
	酢 (ドレッシングビネガー)	10	1000	3	0	-	0	0	
	サラダ油	5	500	46	0	-	5.0	0	
	塩	0.5	50	0	0	-	0	0.5	
	コショウ	0.01	1	0	0	-	0	0	
	卵	15	1500	23	-	1.9	1.5	0	
コンソメスープ	オクラ	5	500	2	0.1	-	0	0	
	玉ねぎ	10	1000	4	0.1	-	0	0	
	人参	10	1000	4	0.1	-	0	0	
	固形コンソメ	2	200	5	-	0.1	0.1	0.9	
	水	150	15000	-	-	-	-	-	
	塩	0.5	50	0	0	-	0	0.5	
	コショウ	0.01	1	0	0	-	0	0	
フルーツゼリー	白桃缶	20	2000	17	0.1	-	0	0	
	アガー (エイトアガー)	2	200	3	0	-	0	0	
	砂糖	10	1000	38	0	-	0	0	
	熱湯	60	6000	-	-	-	-	-	
	ホワイトキュラソー	1	100	3	0	-	0	0	
合計				716	9.3	20.7	20.2	4.0	

表2 野菜の中心温度と加熱時間

		キャベツ	きゅうり	にんじん
中心温度 (°C)	①	81.5	85.9	83.0
	②	81.3	79.8	82.4
	③	83.4	78.3	81.7
	Mean±SD	82.1±0.9	81.3±3.3	82.4±0.5
加熱時間		5分	4分	6分

ポイドを用い、滅菌済みサンプルバッグに無菌的に採取し、実習終了まで5℃以下の冷蔵庫に保管した。

3. 市販サラダの購入と試料の採取

市販サラダは大阪府下にある3ヶ所のデパートあるいは惣菜店で3種類 (A、B、C) のサラダ100gを3点ずつ購入して保冷剤を入れて持帰り、同様に無菌的に5.0g採取し、実験に供した。市販サラダの内容は表3に示した。

表3 実習サラダと市販サラダの内容およびpH

	実習サラダ	A	B	C
内容	きゅうり	きゅうり	きゅうり	きゅうり
	キャベツ	キャベツ	キャベツ	キャベツ
	にんじん	にんじん	にんじん	トウモロコシ
	卵	夏みかん	紫キャベツ	ハム
	フレンチドレッシング	マヨネーズ	レタス	マヨネーズ
			トウモロコシ ハム マヨネーズ	
pH	4.89±0.17	4.36±0.01	4.86±0.09	5.49±0.05

4. 細菌検査

検査は次の手順でペトリフィルム法により行った^{9) 10)}。5.0gの試料に45mlの滅菌生理食塩水を加え、ストマッカーで破碎・混和し検液とした (10倍希釈検液)。一般生菌は、さらに滅菌生理食塩水で100倍、1,000倍、10,000倍に希釈し、フィルム状乾燥培地シャーレAC (3M社) に検液1mlを2点並列で接種し、35℃で48±2時間培養した。大腸菌および大腸菌群は10倍希釈検液および100倍希釈検液をシャーレEC (3M社) に1mlずつ2点並列で接種し、24±1時間培養後、コロニー数をカウントした。

5. 統計処理

データ処理は一元配置分散分析 (one-way ANOVA) およびScheffeの検定を用いた。

Ⅲ 実験結果

1. 野菜の洗浄前、洗浄後、加熱後の一般生菌数の変化

洗浄前のキャベツ、きゅうり、にんじんともに1gあたり $10^5 \sim 10^6$ CFU/gの範囲（キャベツ： 5.21 ± 1.03 、きゅうり： 5.92 ± 0.63 、にんじん： 5.49 ± 0.61 、log of CFU / g）で一般生菌数が確認され、野菜間での有意差は見られなかった。飲用適の流水で洗浄した後、キャベツ（ 4.07 ± 0.79 log of CFU/g）、にんじん（ 3.81 ± 0.79 log of CFU/g）ともに菌数の減少がみられ、きゅうりでは逆に、洗浄により菌数が増加し、カウントできないものがみられた。そのサンプルを除き、統計処理を行うといずれも洗浄前と比較して有意差はなかった。加熱後の野菜の菌数は顕著に少なく、洗浄前の野菜と比較して有意な菌数の減少がみられた（図2）。各々の野菜について洗浄前、洗浄後および加熱後の写真を図3に示した。

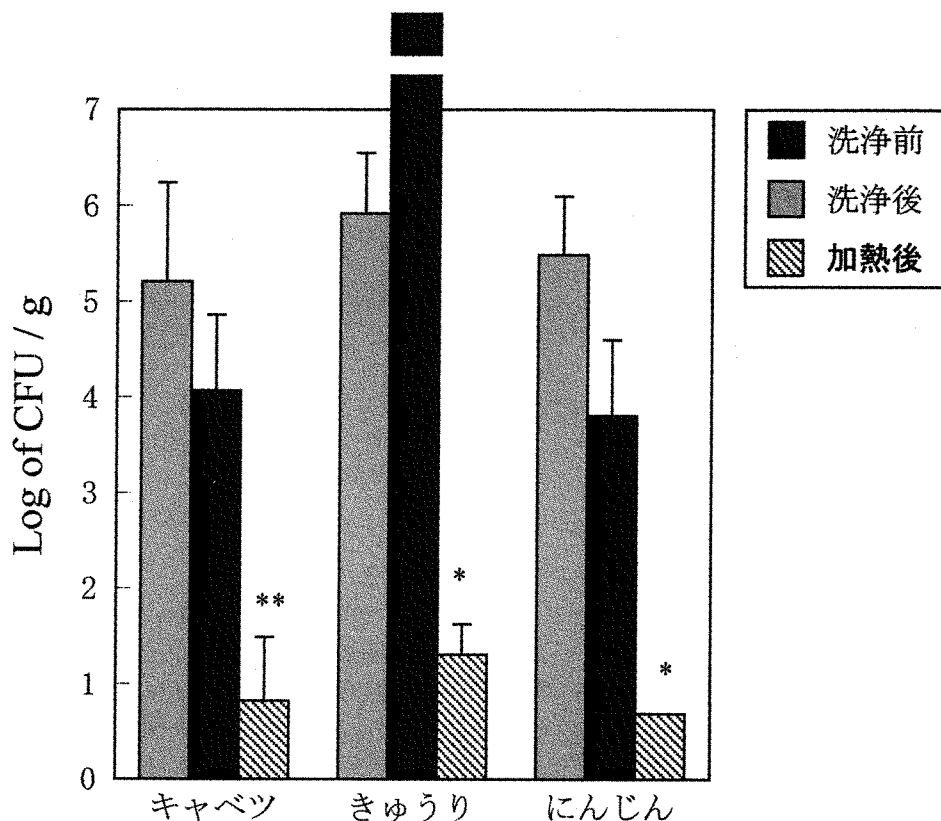


図2 野菜の調理過程における一般生菌数の変化

* P<0.001, ** P<0.01 洗浄前vs.加熱後

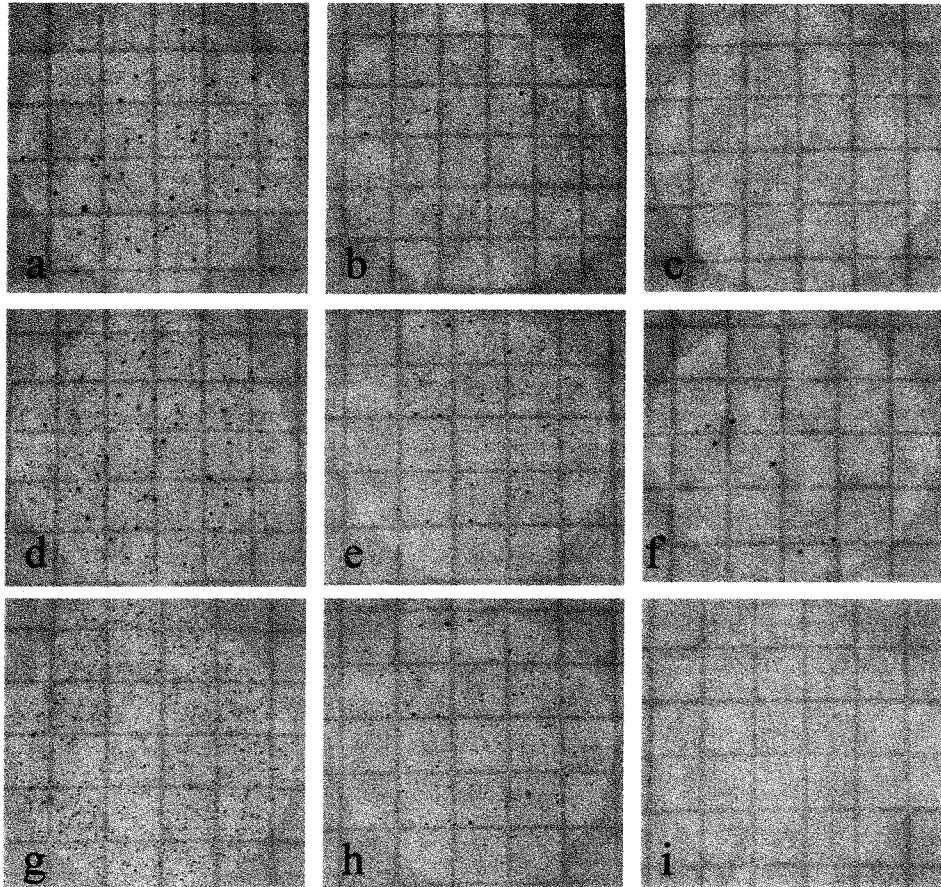
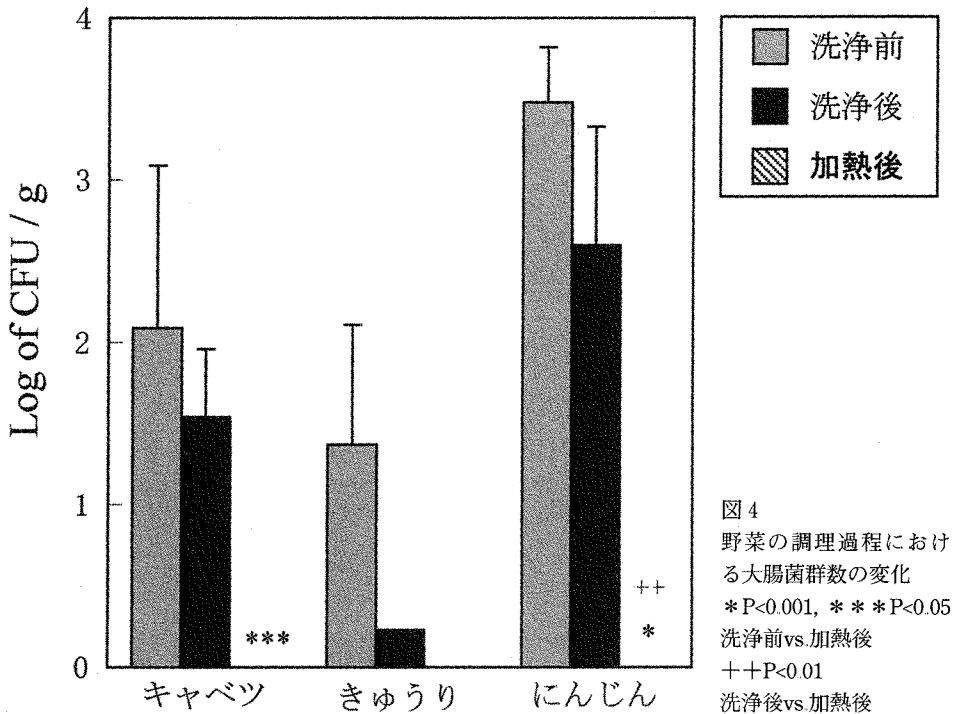


図3 野菜の調理過程における一般生菌数の変化

a,キャベツ洗浄前 b,キャベツ洗浄後 c,キャベツ加熱後 d,きゅうり洗浄前
e,きゅうり洗浄後 f,きゅうり加熱後 g,にんじん洗浄前 h,にんじん洗浄後
i,にんじん加熱後 a,b,d,e,g,h : 1,000倍希釈検液 c,f,i : 10倍希釈検液

2. 野菜の洗浄前、洗浄後、加熱後の大腸菌群数の変化

大腸菌群はガス産生による空胞を伴ったコロニーとして観察された(図5(1)(2))。洗浄操作により、どの野菜についても大腸菌群の減少がみられたが、洗浄前の菌数と比較して有意差はなかった(図4)。加熱後の各野菜からは大腸菌群が全く検出されなかった(図4、図5(2)g,h,i)。キャベツは洗浄前と加熱後のサンプルに有意差($P < 0.05$)が、にんじんは洗浄前と加熱後および洗浄後と加熱後のサンプルに有意差(それぞれ、 $P < 0.001$ 、 $P < 0.01$)がみられたが、きゅうりはいずれの処理による有意差も見られなかった。大腸菌はすべてのサンプルで検出されなかった。



3. 実習サラダからの一般生菌、大腸菌群の検出

調整後のフレンチドレッシング (pH=3.20) からは一般生菌、大腸菌、大腸菌群ともに全く検出されなかった。実験方法に示した手順で処理した卵からは 10^2 CFU/g レベル (2.56 ± 0.05 log of CFU / g) の一般生菌が検出されたが、大腸菌、大腸菌群は全く検出されなかった。盛り付け後のサラダ (pH= 4.89 ± 0.17) からは同様に 10^2 CFU/g レベル (2.15 ± 0.07 log of CFU / g) の一般生菌が検出され、大腸菌、大腸菌群は検出されなかった (図6、7)。

4. 実習サラダと市販サラダの衛生状態の比較

一般生菌数は、実習サラダが 10^2 CFU / gレベル (2.15 ± 0.07 log of CFU / g) であるのに対し、市販サラダは 10^5 CFU / g レベル (A: 5.65 ± 0.08 , B: 5.67 ± 0.21 , C: 5.37 ± 0.67 , log of CFU / g) の菌が確認され、実習サラダはA、B、Cすべての市販サラダよりも、有意に一般生菌数が少なかった (P<0.001)。市販サラダ間では一般生菌数に有意な差はみられなかった。大腸菌群は実習サラダで全く検出されなかったのに対し、市販サラダでは $10^2 \sim 10^3$ CFU / g レベル (A: 3.01 ± 0.03 , B: 2.64 ± 0.20 , C: 2.32 ± 0.05 , log of CFU / g) の菌が確認された。市販サラダ間ではAがB、Cよりも有意に菌数が多く (それぞれP<0.05、P<0.01)、B、C間では差がみられなかった (図8、9)。大腸菌はすべてのサラダにおいて検出されなかった。

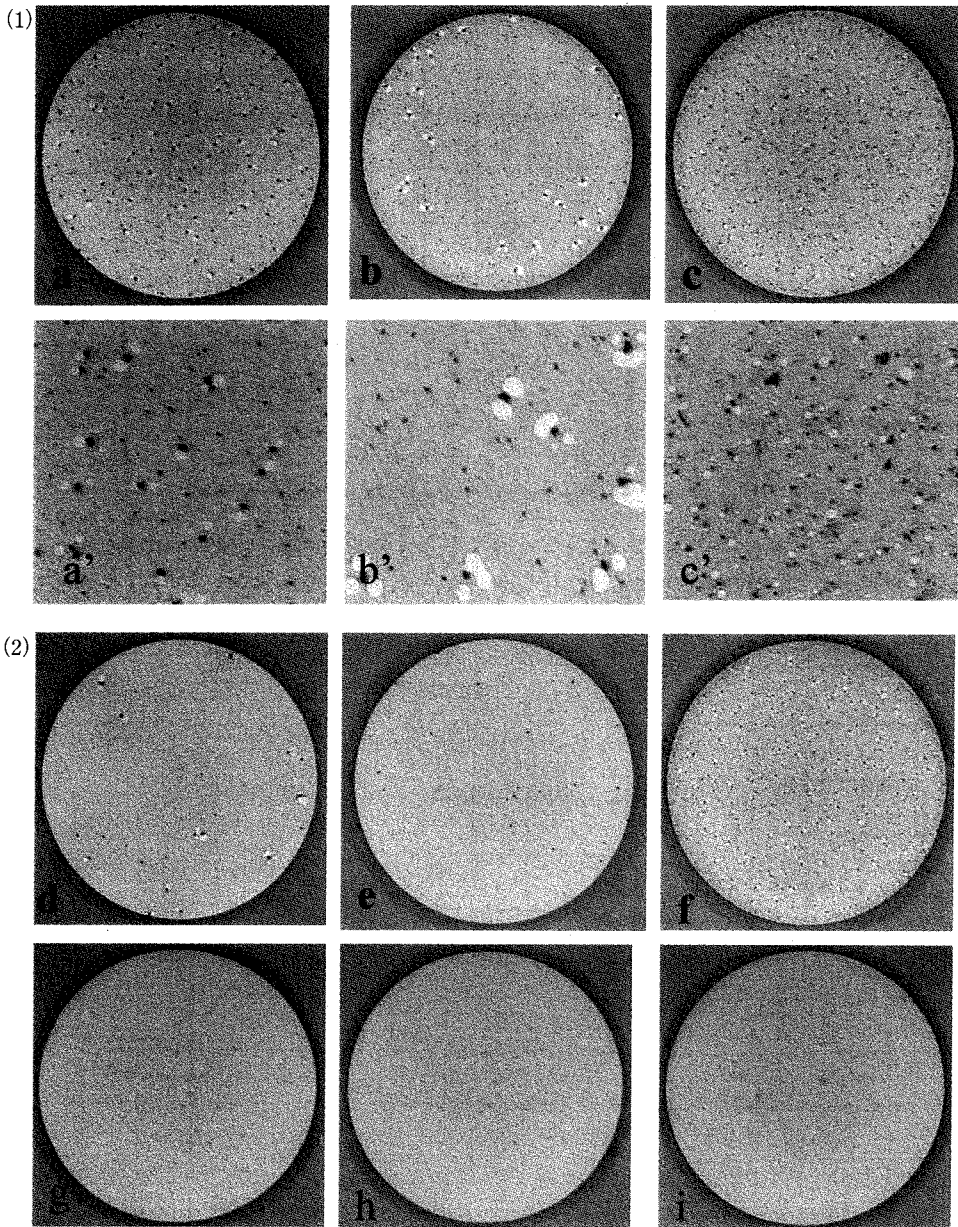


図5 野菜の洗浄前、洗浄後、加熱後の大腸菌群

(1) a, キャベツ洗浄前 b, きゅうり洗浄前 c, にんじん洗浄前 a', b', c' それぞれの拡大写真
すべて10倍希釈検液

(2) d, キャベツ洗浄後 e, きゅうり洗浄後 f, にんじん洗浄後 g, キャベツ加熱後 h, きゅうり加熱後 i, にんじん加熱後
すべて10倍希釈検液

給食管理実習におけるサラダの簡易細菌検査に基づく衛生評価

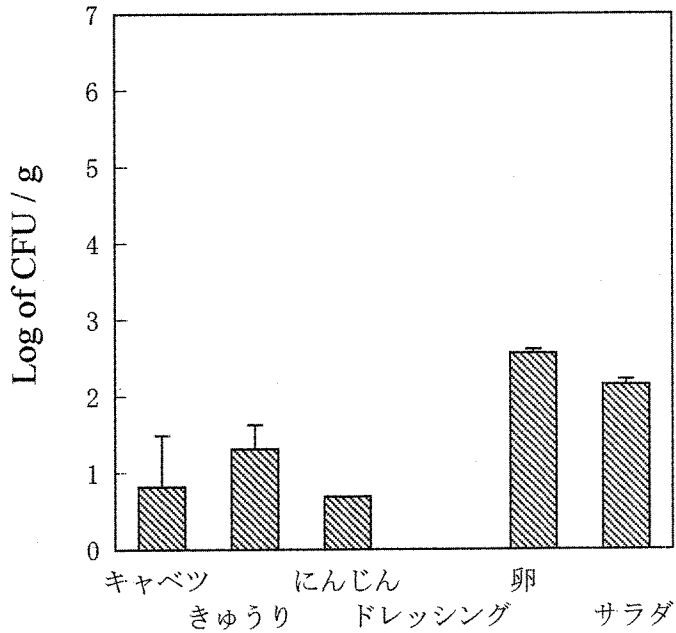


図6 実習サラダの一般生菌数

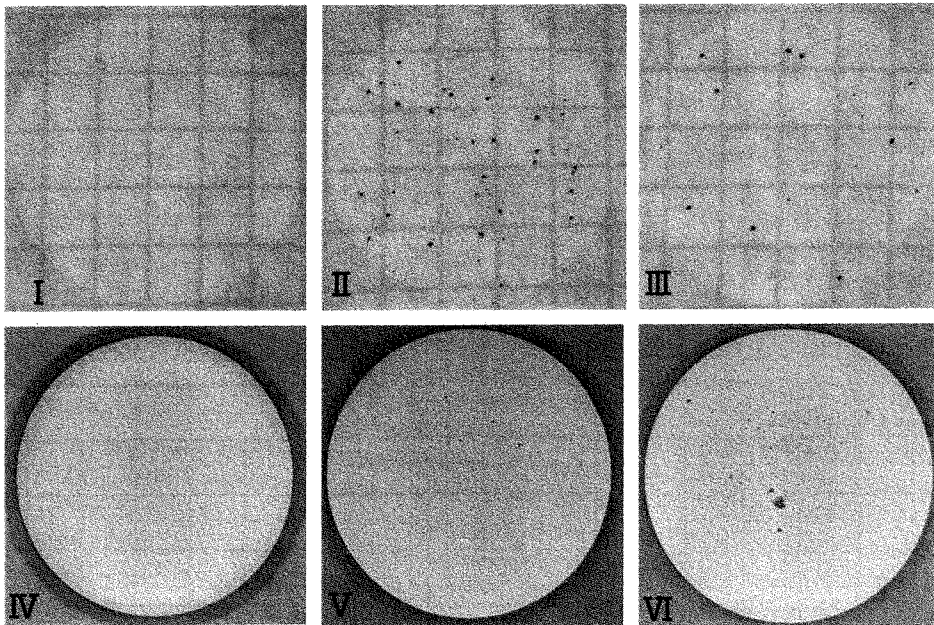


図7 ドレッシング、卵、サラダの一般生菌数と大腸菌群数
 I,IV: ドレッシング II,V: 卵 III,VI: サラダ、I,II,III: 一般生菌 IV,V,VI: 大腸菌群
 すべて10倍希釈検液

Ⅳ 考察

洗浄前のキャベツ、きゅうり、にんじんの一般生菌、大腸菌群による汚染度は文献値の範囲内^{5) 11)} にあり、今回使用したこれらの野菜は典型的な市販野菜の衛生状態にあると考えられる。しかし、きゅうりの一般生菌数は平均 $5.92 \pm 0.63 \log$ of CFU / g (2.33×10^6 CFU/g) となり、 10^6 個 / g以下を「A」(非加熱食品、細菌的に良好である)とする大阪府細菌的指導目標値を上回っていた⁸⁾。

野菜の洗浄操作の一般生菌数、大腸菌群数への影響に関してはキャベツ、にんじんは減少傾向にあることは確認できたが、有意な減少は見られず、今回の洗浄操作は菌数の減少には効果がなかったと考えられる。また、きゅうりは洗浄前よりも洗浄後の方が一般生菌数の増加したサンプルがあるが、これは洗い方によっては汚染が広がるという報告⁶⁾と一致する。

加熱処理により、いずれの野菜においても一般生菌数は有意に減少し、ほとんどの菌が死滅したと考えられる。また、大腸菌群に関しては全く検出されず、加熱操作の有効性が示された。加熱後のきゅうりの大腸菌群数は洗浄前と比較して菌数の減少に有意差がみられなかったが、これは洗浄前のきゅうりの大腸菌群数が少なかったことによると推察される。HACCPに基づく衛生手順^{4) 8)}では野菜を加熱せずに供する場合は流水→中性洗剤→流水洗浄に引き続き、200ppmの次亜塩素酸ナトリウムを含む溶液で5分間殺菌を行うと

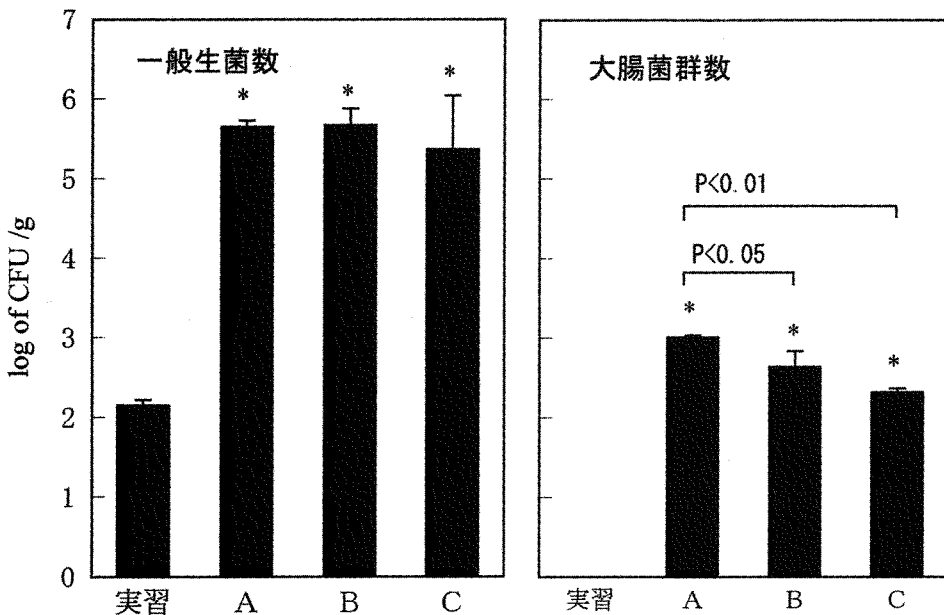


図8 実習サラダと市販サラダの衛生状態の比較
 実習：実習サラダ A,B,C：市販サラダ *P<0.001 実習サラダvs.市販サラダA, 実習サラダvs.市販サラダB, 実習サラダvs.市販サラダC

給食管理実習におけるサラダの簡易細菌検査に基づく衛生評価

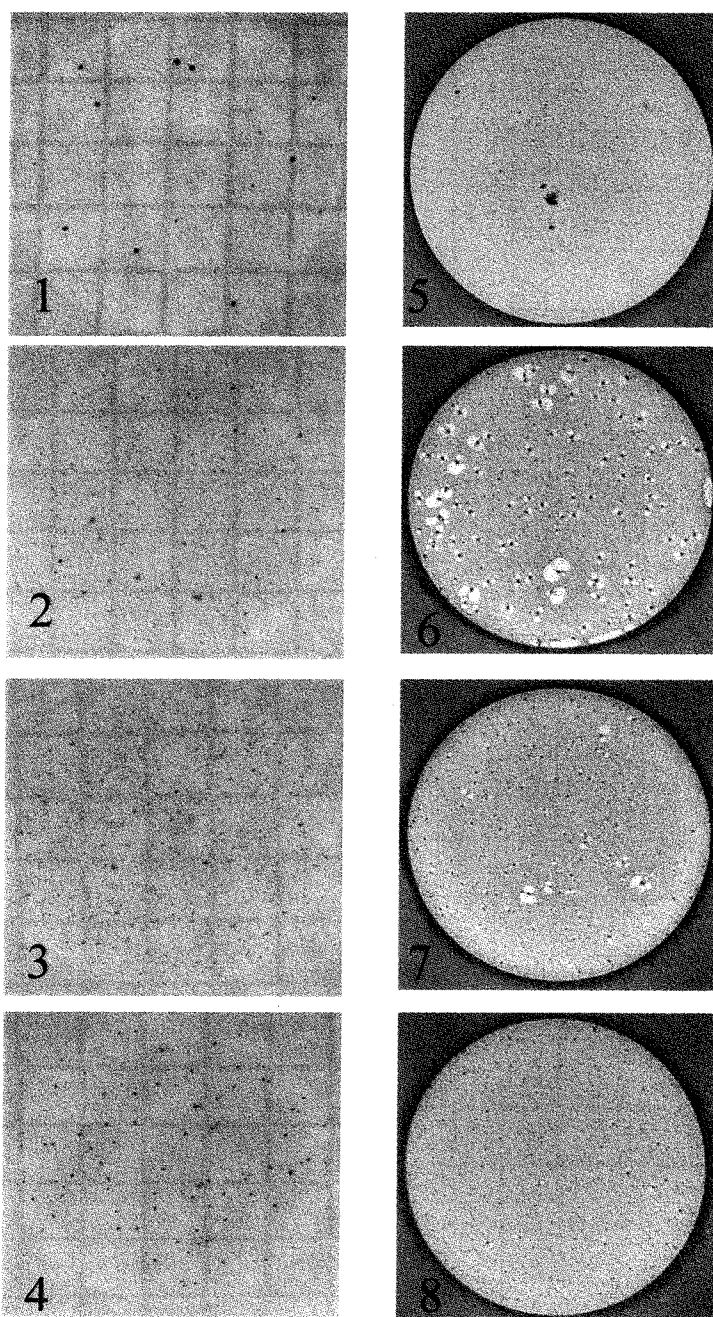


図9 実習サラダと市販サラダの衛生状態の比較

1,5:実習サラダ 2,6:市販サラダA 3,7:市販サラダB 4,8:市販
サラダC 1,2,3,4:一般生菌 5,6,7,8:大腸菌群 1,5-8:10倍希釈検
液 2-4:1,000倍希釈検液

されているが、この濃度の次亜塩素酸ナトリウムを含む25℃の溶液に10分間浸漬しても一般生菌および大腸菌群はほとんど減少しないというデータもある¹⁾。特に今回の加熱処理はスチームコンベクションオープンによる中心温度75℃以上の蒸気加熱処理のため、効果的であったと考えられる。

フレンチドレッシングの10倍希釈検液のpHは3.20であったが、希釈倍数の高い検液においても一般生菌、大腸菌、大腸菌群ともに検出されなかった。

加熱後の卵に関しては本来、菌は検出されないはずであるが、今回は300～400CFU/gの一般生菌が検出された。調理中の手指には汚染がみられたことから¹²⁾加熱後の卵の取り扱いにおける二次汚染が推察され、衛生教育の重要性が示された。盛り付け後のサラダからは100～200CFU/gレベルの一般生菌が検出された。加熱後の野菜やドレッシングからはほとんど菌が検出されなかったため(図6)、これは加熱後の卵からの持ちこみによると考えられた。

実習サラダは市販サラダに比較して、一般生菌数、大腸菌群数ともに有意に少なく、これは加熱処理の有無の差によるものと推察される。市販サラダに関しての衛生指導基準は都道府県により異なるが、今回の結果は厚生省環境衛生局の「弁当及び惣菜の衛生規範」²⁾(検体1gにつき10⁶CFU/g以下が望ましい)および大阪府細菌指導目標値⁸⁾の範囲内であった。

V 謝辞

ペトリフィルム法に関してご指導いただいた島久フードテック株式会社の早川悦史氏、実習にあたり、ご協力いただいた本学家政科の内野友美子氏、辻本薫世氏に謝意を表します。

参考文献

- (1) 船渡川圭次、鬼柳麗子、秋田光洋、大島徹、荒井正美、長則夫、杉山みゆき「生野菜の効果的な殺菌方法と中性洗剤の病原菌に及ぼす影響」『食品衛生研究』第49巻、第8号、1999年。
- (2) 厚生省環境衛生局食品衛生課長通知『弁当及び惣菜の衛生規範について』環食第161号、1979年。
- (3) 厚生統計協会編『国民衛生の動向』第44巻、1997年度版。
- (4) 厚生労働省 食品衛生調査会食中毒部会『大規模食中毒等対策について(大量調理施設衛生管理マニュアル)』1997年3月17日。
- (5) 久門勝利、内村眞佐子、依田清江、岸田一則、横山栄二、小岩井健司「市販食品(生食用野菜および食肉)の細菌汚染実態調査—1998年度」『千葉衛研報告』第23号、1999年。
- (6) 嶺岸秀子、嶺岸令久、青木繁伸、高橋久仁子「調理食品(市販惣菜)の食品衛生学的研究Ⅱ」『群馬県立医療短期大学紀要』第4巻、1997年。
- (7) 宮澤文雄、金井美恵子「学校給食とHACCP衛生管理(8)、乳製品、穀類および野菜による食中毒」、『学校給食』第53巻、第576号、2002年。
- (8) 大阪府健康福祉部『集団給食施設のあり方』2001年3月。
- (9) Park YH, Seo KS, Ahn JS, Yoo HS, and Kim SP, “Evaluation of the Petrifilm Plate Method for the Enumeration of Aerobic Microorganisms and Coliforms in Retailed Meat Samples,” *J. Food Prot.*

給食管理実習におけるサラダの簡易細菌検査に基づく衛生評価

Vol.64, No.11, 2001.

- (10) Sibernagel KM and Lindberg KG, "Evaluation of the 3M Petrifilm Enterobacteriaceae Count Plate Method for the Enumeration of Enterobacteriaceae in Foods," *J. Food Prot.* Vol. 65, No. 9, 2002.
- (11) 上田成子、桑原祥浩「生食用野菜の細菌学的研究」*J. Antibact. Antifung. Agents*, Vol.26, No.12, 1998.
- (12) 尾関百合子、米浪直子『日本家政学会関西支部研究発表会要旨集』P39,2002年。