

### 1. 研究目的

この調査は農林水産省が実施している「遺伝子組換え体の産業利用における安全性確保総合研究」の一環として農業環境技術研究所から委託を受けて実施したものである。納豆生産工場からの納豆菌の拡散実態、環境中における生存状況などを実態調査することにより、今後使用が予想される食品製造用組換え発酵微生物の環境影響評価の基礎資料とすることを目的として試験をおこなった。

### 2. 研究方法

以下のような方法で、納豆試作および納豆製造工場と考えられる納豆菌の挙動について試験をした。

#### 2.1 納豆試作にともなう排出

当工業技術センターにおいて納豆を試作し、排水に流入する納豆菌および空中浮遊菌の実態調査を行なった。試作時、排水に流入する納豆菌は使用するボールに付着したものがほとんどであるので内壁を滅菌水で洗浄し菌数を測定した。試作は煮豆2kgに市販納豆菌約 $10^6$ CFUを希釈菌液としてスポイトで植菌した。また、浮遊菌の捕集は気中サンプラーを用いた。

#### 2.2 納豆工場からの排出

日産50俵の納豆生産工場において、製造に伴う釜の洗浄水、器具類の表面納豆菌数、排気中の納豆菌数の調査を行ない、排出量を推定した。

#### 2.3 排水中での挙動

中規模以上の納豆工場においてはすべての排水は処理施設に入り処理後工場外に排出されるため、排水処理中の納豆菌の変化をネオマイシン耐性納豆菌を用いて検討した。

#### 2.4 土壌中での挙動

排気中の納豆菌については最終的に土壌に落下すると思われるため、滅菌土壌、砂にネオマイシン耐性納豆菌の栄養細胞、胞子を添加し菌数の変化を調査した。

### 3. 結果

#### 3.1 納豆試作にともなう排出

納豆菌は1ボールあたり約 $10^6$ CFU確認され、植菌した菌の10%程度が洗浄時排出されると思われる。ただし、ボールを洗浄せずに繰り返し使用した場合は割合は低下する。浮遊菌は盛込前 $18\text{CFU}/\text{m}^3$ 、盛込中 $27\text{CFU}/\text{m}^3$ でほとんど変化がなかった。

#### 3.2 納豆製造工場からの排出

釜の洗浄水の菌数約 $3 \times 10^2$ CFU/ml、植菌済煮豆移動用台車表面の菌数約 $5 \times 10^3$ CFU/100cm<sup>2</sup>から推計すると次のようになる。

$$\begin{aligned} \text{釜洗浄：水量(約20 l)} \times 3 \times 10^2 \text{個} \times 25 \text{回転(2俵釜)} \\ = 1.5 \times 10^6 \text{CFU/日} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{コンテナ洗浄：} 5 \times 10 \text{CFU}/\text{cm}^2 \times \text{台車内面積(15000cm}^2) \\ \times \text{洗浄回数(4回/日)} = 3 \times 10^6 \text{CFU/日} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{充填機洗浄：} 5 \times 10 \text{CFU}/\text{cm}^2 \times \text{ホッパ内面積(8500cm}^2) \times \\ \text{洗浄回数(4ライン/1回/日)} = 1.7 \times 10^6 \text{CFU/日} \end{aligned}$$

浮遊菌：植菌時は直近で $8 \times 10^2/\text{m}^3$ 程度に増加するが通常の充填場は $8 \times 10/\text{m}^3$ 程度であった。

納豆種菌の使用量は $10^3$ CFU/g煮豆が標準であるから当工

場の納豆菌使用量は $10^3$ CFU/g煮豆  $\times 6 \times 10^6$ g =  $6 \times 10^9$ /日となる。このことから一日あたりでは使用種菌の約10%程度が工場外に出るものと思われる。

なお、50俵の大豆から約6トンの納豆が製造される。納豆の納豆菌数は $10^9 \sim 10^{10}$ CFU/g であるので製品として工場外にでる納豆菌は $6 \times 10^6$ g  $\times 10^9$ CFU/g =  $6 \times 10^{15}$ CFU/日と推計される。

#### 3.3 排水中での挙動

納豆製造工場の排水処理施設の曝気槽から採取した活性汚泥にネオマイシン耐性納豆菌を添加し20 においてマグネチックスターラーで攪拌しつつエアープンプで空気を吹き込み経時的に汚泥を採取し2時間静置後上澄の納豆菌数を計数した。結果は表1のとおりであった。

表1 活性汚泥中の納豆菌数の変化

経過時間 (hr)	栄養細胞 (添加菌数： $7.3 \times 10^6$ CFU/ml汚泥)	胞子 (添加菌数： $2.5 \times 10^6$ CFU/ml汚泥)
0	$1.8 \times 10^7$	$4.5 \times 10^5$
1	$5.3 \times 10^6$	$2.9 \times 10^5$
2	$1.6 \times 10^6$	$2.6 \times 10^5$
3	$1.9 \times 10^5$	$3.2 \times 10^5$
4	$5.0 \times 10^4$	$1.7 \times 10^5$
6	$2.2 \times 10^3$	$2.1 \times 10^5$
24	-	$3.7 \times 10^3$
48	-	$5.2 \times 10^3$
72	-	$2.7 \times 10^3$

栄養細胞の場合は添加直後から菌数が減少し24時間後には納豆菌らしいコロニーは確認できなかった。しかし、胞子の場合は減少速度が遅く、72時間後でも納豆菌とみられるコロニーが認められた。

#### 3.4 土壌中での挙動

土壌として園芸用黒土を用い、オートクレーブで滅菌した後、納豆菌を添加した。また、海岸で採取した砂を一夜流水にさらし乾熱滅菌したものにも納豆菌を添加、20 で保持して菌数の変化をみた。土壌、砂を分取し滅菌水を加え攪拌しコロニー数の変化を見たところ表2、3のような結果となった。

表2 滅菌土壌中の納豆菌数の変化

経過時間 (日)	栄養細胞 (添加菌数： $1.0 \times 10^6$ CFU/ml土壌)	胞子 (添加菌数： $9.0 \times 10^6$ CFU/ml土壌)
0	$2.1 \times 10^5$	$2.4 \times 10^6$
1	$2.4 \times 10^3$	$3.1 \times 10^6$
2	$3.7 \times 10^3$	$4.0 \times 10^6$
3	$7.6 \times 10^2$	$2.5 \times 10^6$
4	-	$2.2 \times 10^6$
5	-	$1.7 \times 10^6$
7	-	$5.6 \times 10^5$
9	-	$4.8 \times 10^5$

土壌中では栄養細胞の減少が著しかったが、胞子についてはあまり変化が見られなかった。

表3 滅菌砂中の納豆菌数の変化

経過時間 (日)	栄養細胞 (添加菌数： $1.4 \times 10^7$ CFU/ml 砂)	孢子 (添加菌数： $5.0 \times 10^6$ CFU/ml 砂)
0	$1.2 \times 10^5$	$3.0 \times 10^6$
1	$3.6 \times 10^4$	$4.6 \times 10^6$
2	$1.6 \times 10^5$	$5.5 \times 10^6$
3	$3.6 \times 10^5$	$4.9 \times 10^6$
4	$4.4 \times 10^5$	$4.7 \times 10^6$
5	$7.7 \times 10^5$	$3.1 \times 10^6$
7	$1.4 \times 10^6$	$3.9 \times 10^6$
9	$2.4 \times 10^6$	$5.6 \times 10^6$

#### 4. まとめ

納豆工場で使用する種菌は、空中に浮遊するものはわずかであり、ほとんどが排水にともなって処理され、かなり除去されると考えられる。一部、外部に拡散したものは土壌中では少なくとも一週間程度は生存し続けると思われる。また、納豆の様に製造に使用した微生物が増殖し製品に多量に存在する場合、工場からの拡散より家庭からの二次的な拡散の方が問題であると思われる。