

牛ふん堆肥化過程におけるSalmonellaおよびListeriaの生残性と損傷菌の発生実態

I. 背景と目的

- 牛ふん中にはSalmonellaやListeria等の食中毒菌が含まれている場合がある。それらは、堆肥化により低減できるとされているが、堆肥化過程での、損傷菌の発生状況は不明。
- 衛生的に安全な堆肥を生産するためには、堆肥化の過程で損傷菌が発生するのか、その実態を解明する必要がある。
- 目的：乳牛ふんオガクズ混合物の堆肥化過程において、食中毒菌の生残性と損傷菌の発生実態を明らかにする。

II. 方法①：堆肥化試験

乳牛ふんとオガクズの混合物（水分70%）を約7m³堆積



試験1：2014年5月開始
試験2：2015年6月開始

約3週間隔で4回攪拌（=切返し）

III. 方法②：食中毒菌の接種と定量

開始時と各切返し時の混合物50gを封入体（PTFE製）に充填（写真1）

← 食中毒菌を接種

- 試験1：Salmonella Infantis (13408フジイ株)
- 試験2：Listeria monocytogenes (1/2c, LM151株, リファルシン耐性)

← 封入体の口を口シール、四片をアクリル板で押さえて保護ネットで包む（写真2）

堆肥の表層,中心,床面に埋設（3週間）

回収,PBSを加えて振盪, 段階希釈

試験1：Salmonella定量（混釈培養）

- 選択培地：ノボピオシン加DHL(nDHL)
- 蘇生培地：TSA培地と混釈培養(37℃4h)後
□nDHL重層（TSA+nDHL）

37℃・24時間培養

Salmonella菌数

- nDHL：健常菌
- TSA+nDHL：損傷菌+健常菌

試験2：Listeria定量（平板塗抹）

- 選択培地：CHROMagar Listeria (CHROM)
- 選択圧強化培地：CHROM+4%NaCl
- *両培地ともにリファルシン添加（50ppm）

37℃・3~4日培養

Listeria菌数

- CHROM+4%NaCl：健常菌
 - CHROM：損傷菌+健常菌
- 2種類の培地で計数される菌数差 = 損傷菌

IV. 結果

試験1：2014年堆肥化試験（Salmonella接種）

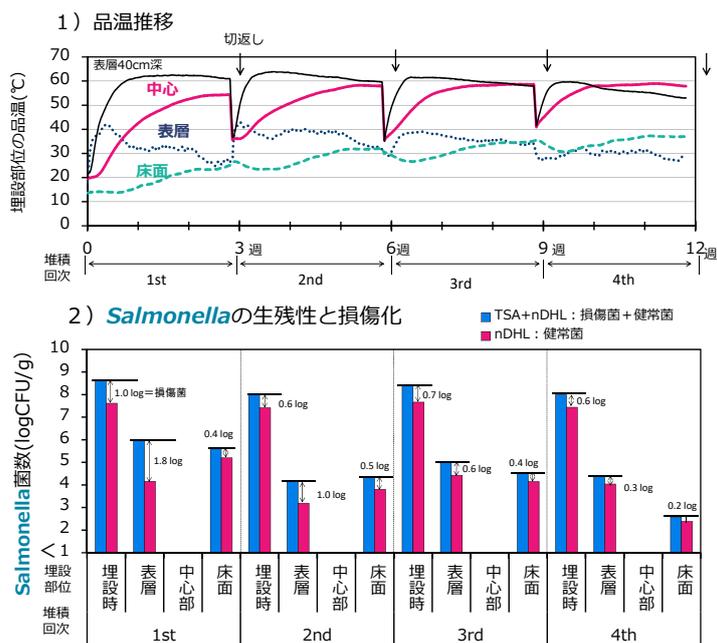


図1 堆肥化過程における封入体埋設部位の品温推移（上段）およびSalmonellaの生残性と損傷化（下段）

- 堆積中心部は55~59℃に上昇し、接種菌は検出限界未満。
- 表層と床部の品温は概ね40℃以下。接種菌は埋設時から3~5オーダー低減、検出培地間で0.2~1.8 logの菌数差が見られ損傷菌が発生した。

試験2：2015年堆肥化試験（Listeria接種）

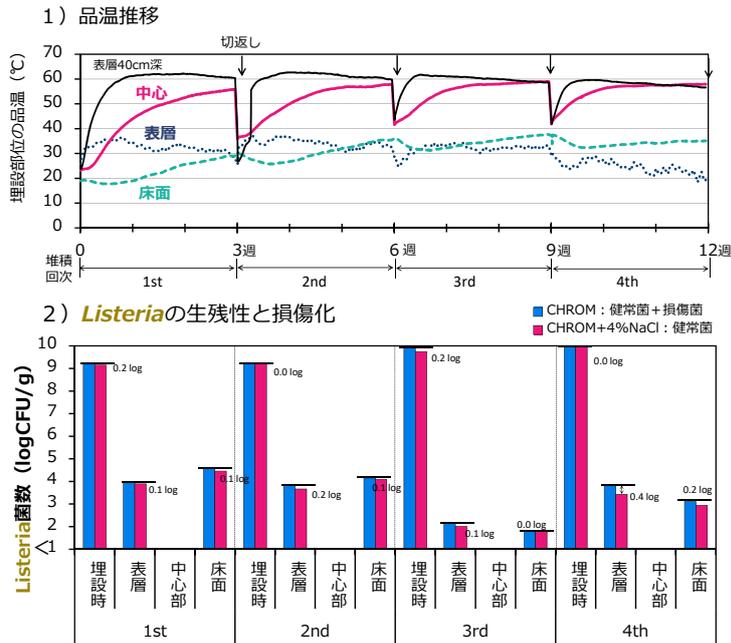


図2 堆肥化過程における封入体埋設部位の品温推移（上段）およびListeriaの生残性と損傷化（下段）

- 堆積中心部は56~58℃に上昇し、接種菌は検出限界未満。
- 表層と床部の品温は40℃以下。埋設時から5~8オーダー低減し、検出培地間で0.1~0.4 logの菌数差が見られ損傷菌が発生した。

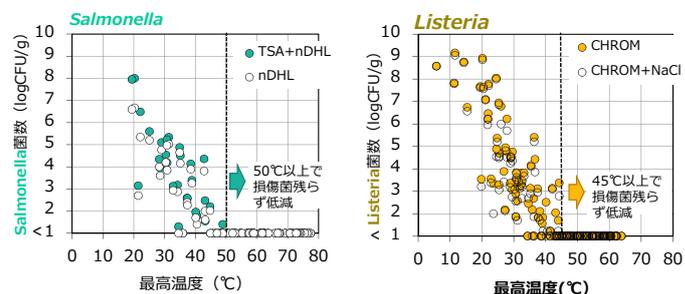


図3 封入体埋設部位の最高到達温度とSalmonella（左）、Listeria（右）生残菌数の関係

* 試験1,2と同様の実験を、副資材および実施時期を変えて合計3回実施した結果

V. まとめ

- 堆積物中心部は55℃以上に達し、Salmonella, Listeriaともに検出限界未満となった。
- 表層と底面の最高温度は概ね40℃以下で、両接種菌ともに3 logCFU/g以上減少したが生残し、一部は損傷菌であった。
- 品温上昇が不十分な表層と底面で損傷菌が発生したが、切返しにより堆積物全体を高温に曝すことにより、損傷菌を残さず低減可能と考えられた。

本研究は農林水産省委託プロジェクト研究「損傷菌の発生機序の解明と検出・制御技術の開発」により実施した。