

B-15 オガ屑を用いたバイオトイレ担体中における大腸菌とサルモネラ菌の消長

お茶の水女子大学大学院人間文化研究科 ○赤石布美子・大瀧雅寛

1. はじめに

既存の水洗トイレで使用する水は、家庭での生活用水使用量の24%を占める¹⁾。また、尿尿は排水中の窒素負荷の75%、リン負荷の50%を占め²⁾、栄養塩の主な排出源として重要な位置を占める。このような水環境への負荷が大きい水洗トイレに代わる衛生設備として、水を使わないトイレが提案されており³⁾、その中でもバイオトイレが着目されている⁴⁾。これは、オガ屑を便槽内に入れ尿尿の投入後にオガ屑を攪拌するという簡単なものである。これによりオガ屑内に生育する好気性細菌による有機物分解を行うとともに、水分の蒸発による減容化⁵⁾が行われる。

また尿尿中にはN、P、無機物質が多く含まれており、バイオトイレ使用後のオガ屑には、それらが残存するため、有機肥料として使用できる可能性がある⁶⁾。

一方、食中毒や水系感染によって起こる下痢症の主な源は、その感染者の糞便⁷⁾とされていることから、人間の糞便には病原微生物が含まれる場合がある⁸⁾。このため衛生面から見ると、糞便を投入したオガ屑について、オガ屑を交換する際や農地に還元する際の安全性を充分確かめておく必要がある。

微生物の生育・活動には水分・温度・好気/嫌気環境・圧力などさまざまな物理化学的因子が関与する。このうち、温度が微生物の生育に最も大きな影響を与えるとされている⁹⁾。

本稿では、食中毒で最大の原因である細菌、中でも被害の最も多い *S. typhi*¹⁰⁾ を用い、さらに同じ腸内細菌科である大腸菌の *E. coli* K12 をモデル細菌として用い、バイオトイレ内における消長を検討した。

一般的なバイオトイレの運転条件では、温度は40-60℃、含水率は40-70%程度に保たれる。本稿では、バイオトイレ使用後オガ屑の温度を、サルモネラ菌と大腸菌の生育に至適な37℃、及びそれより高いが生育可能な45℃に設定した実験を行った。また、含水率を70、60、50%に調整した実験も行い、各々の細菌の不活化への影響を観察した。

2. 実験方法

2.1. オガ屑からの微生物の抽出と測定方法

含水率を調節したバイオトイレ使用後オガ屑 10g をビーカーに入れ、予めインキュベータで所定温度に保温した。そこに栄養培地溶液で約 10^6 - 10^7 CFU/mL になるまで細菌を培養したものを投入した。直ちに攪拌を行い、所定時間後に 0.2g ずつサンプリングした。サンプルは抽出液に入れ3分間攪拌して細菌を液に抽出した。抽出液は、必要に応じて10倍希釈法で適当な濃度まで希釈し、寒天重層法で菌数を測定した¹¹⁾。

細菌は大腸菌 *E. coli* K12 (NBRC 3301)、サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (ATCC 19585) を用いた。

寒天培地には、それぞれデスオキシコレイト酸塩培地(栄研化学)、XLD (Xylose-Lysine-Desoxycholate) 寒天培地 (Merck) を用いた。栄養培地溶液には、Tryptic Soy Agar (Bacto)、抽出液には3 w/v% ビーフエキス溶液 (4NのNaOHにて、pH 9.5に調整)、希釈液には、0.6 M リン酸緩衝液 (pH 7.2) を用いた¹¹⁾。なお栄養培地溶液、抽出液、希釈液は何れも作成後直ちにオートクレーブにて滅菌し、室温まで冷却後用いた。

オガ屑には、トドマツ製材屑で粒径約1.7mmのものを用いた。これをバイオトイレで半年間使用したものを実験に供した。オガ屑の含水率は、105℃のオーブンで一昼夜乾燥し、(1)式のように乾燥前後の重量差から算出し¹²⁾、含水率調節の際には、イオン交換水を加水した。

$$\text{含水率} = (\text{乾燥前担体中の水分} / \text{g}) / (\text{乾燥前担体の重量} / \text{g}) \times 100 (\%) \quad (1)$$

2.2. 各実験条件

実験条件は以下のように設定した。

- (1) 温度 37℃, 含水率 70% のオガ屑中における *S. typhi* および *E. coli* の消長を観察した。
- (2) 温度 37, 45, 60℃, 含水率 60% のオガ屑中における *S. typhi* の消長を観察した。
- (3) 温度 37℃, 含水率 50, 60, 70% のオガ屑中における *S. typhi* の消長を観察した。

3. 結果と考察

3.1. オガ屑中における大腸菌とサルモネラ菌の消長比較

Fig. 1 に温度 37℃, 含水率 70% のオガ屑中での *E. coli* K12, *S. typhi* の消長を示す。

なお, N はサンプル採取時のオガ屑中微生物濃度 (CFU g^{-1}), N_0 はオガ屑への初期投入微生物濃度 (CFU g^{-1}) を示す。また, 不活化は一次反応に従うとし, その速度係数を併記する。

Fig. 1 より, 温度 37℃, 含水率 70% では, *E. coli* K12 に比べ, *S. typhi* は不活化速度が 12 分の 1 となった。

今回用いた大腸菌の菌種では, サルモネラ菌に比べて不活化速度は小さいことがわかった。菌種を増やして確認する必要があるが, この結果から, 大腸菌の減少によって, 他の病原細菌 (例えば, *S. typhi* など) の減少を保証するには, 十分ではないことが示唆される。このため, モデル細菌として, *E. coli* K12 を用いた場合と, その他の病原細菌を用いた場合の, バイオトイレ中における消長の違いを把握しておくことが重要であるといえる。ただし, 既存の報告¹³⁾では, バイオトイレで使用したオガ屑内でのウイルスの消長は, 日単位で減少しており, この速度と比較すれば, サルモネラ菌と大腸菌はどちらも時間単位で減少する速度といえる。

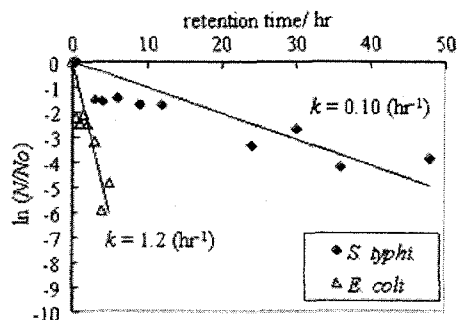


Fig. 1 Survival ratio of *S. typhi* and *E. coli* in sawdust

3.2. オガ屑中におけるサルモネラ菌の不活化への温度による影響

Fig. 2 に温度 37℃, 45℃, 60℃, 含水率 60% のオガ屑中での *S. typhi* の消長を示す。

また, 同様のオガ屑中での *E. coli* K12 の消長¹¹⁾と比較するために, 3 時間までの不活化が一次反応に従うとして, 不活化速度の近似曲線を併記する。

S. typhi のオガ屑投入後 3 時間内の不活化速度は, 45℃の方が 37℃より 1.4 倍大きくなった。これは, 既存の報告¹¹⁾にある, *E. coli* K12 の不活化速度は, 45℃の方が 37℃より 1.6 倍大きいという結果と, 類似していた。

このことから, 病原細菌の安全性を高めるためには, 温度を高くすることが有効であることが示唆される。

また, サルモネラ菌および大腸菌の生育至適 (対数増殖期の増殖速度が最大) 温度は, それぞれ 35-37℃, 37-41℃, 生育不可能になる温度は 46-49℃, 48-50℃とされている¹⁴⁾が, 今回の実験では, バイオトイレ使用後オガ屑中においては, 両方の細菌とも最適な温度条件において不活化した。これまでの報告において, 牛糞中では, 37℃で *S. typhi* の 90% が不活化するには, 104 時間を要することが報告されている¹⁵⁾が, 含水率 60% のバイオトイレ使用後オガ屑中においては同様の不活化には 1.4 時間しかかからず, 病原細菌の不活化にかかる時間を 75 分の 1 程度に短縮できることになる。

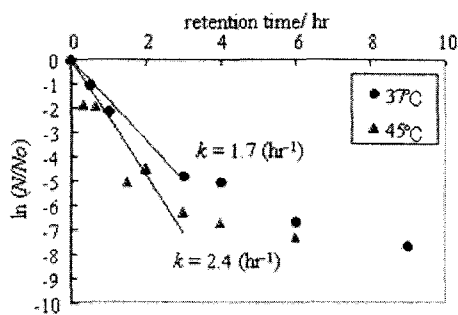


Fig. 2 Effect of temperature on *S. typhi* inactivation

3.3. オガ屑中におけるサルモネラ菌の不活化への含水率の影響

Fig. 3 に温度 37°C, 含水率 50, 60, 70% のオガ屑中での *S. typhi* の消長を示す。

Fig. 3 より, *S. typhi* の不活化速度は, 含水率 70% に比べ, 含水率 60% では, 10 倍以上, 50% では 40 倍以上も大きくなった。これより, バイオトイレ使用后オガ屑は, 含水率 50-70% の間では, 含水率が低いほど *S. typhi* の不活化は早まったことが示された。よって, 病原細菌を安全に処理するためには, 含水率を低く保つことが重要であると示唆される。

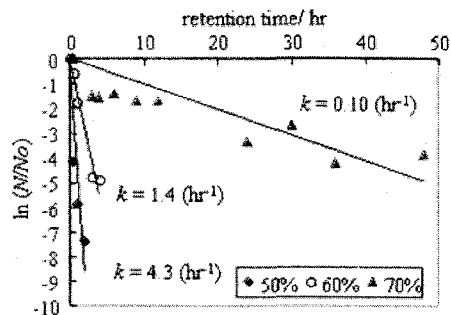


Fig. 3 Effect of temperature on *S. typhi* inactivation

4. まとめ

バイオトイレの担体であるオガ屑中において *E. coli* K12 と *S. typhi* の消長を観察, 比較したところ, モデルウイルスに比べればどちらの細菌も速く不活化したが, *E. coli* K12 の方がより大きな速度であった。従って, 大腸菌を安全側の指標として用いるには, 考慮を要することがわかった。

37°C と 45°C においては, どちらの細菌も高温の方が早く不活化した。含水率 50-70% においては, *S. typhi* は含水率が低い方が早く不活化した。従って, 温度を高めること, および含水率を低くすることが, 腸内細菌属である *S. typhi* の減少に効果があることが示された。

参考文献

- 1) 東京都水道局: 水道ニュース 2000 年 7 月号,
<http://www.waterworks.metro.tokyo.jp/water-news/2000/n07-02.htm>
- 2) 住友恒ら: 環境工学, 理工学図書, 1998
- 3) Fittschen I. and Niemczynowicz: Experiences with dry sanitation and graywater treatment in the ecovillage toarp, Sweden, *Wat. Sci. Tech.*, 35 (9), 161-170, 1997
- 4) 石崎勝義ら: 資源循環型トイレットの可能性, 環境システム研究論文集, 28, 2000
- 5) Horisawa S. et al.: The Effect of Wood species on degradation rates and Bacterial Communities in a Small Scale Biodegradation System for Garbage Using Wood matrix, *J. Wood Sci.*, 48, 232-236, 2000
- 6) Toor G. S. et al.: Reducing phosphorus in dairy diets improves farm nutrient balances and decreases the risk of nonpoint pollution of surface and ground waters Agriculture, *Ecosystems & Environment*, 105, 401-411, 2005
- 7) WHO: *Sanitation Promotion*, 1992
- 8) Epstein E.: Pathogenic health aspects of land application, *Biocycle*, Sep, 62-67, 1998
- 9) Shadbolt C. T. et al.: Nonthermal death of *Escherichia coli*, *Int. J. Food Microbiology*, 49, 129-138, 1999
- 10) 厚生労働省平成 16 年 食中毒発生状況 (速報) <http://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/index.html>
- 11) 大瀧雅寛ら: バイオトイレにおける病原微生物の挙動及び二次 感染リスク評価, 第 57 回土木学会年次学術講演会講演概要集, VII, 281, 2002
- 12) 寺山貢平ら: オガ屑を用いた乳牛糞尿の資源化へ繰り返し使用によるオガ屑の物性の経時変化へ, 日本木材学会北海道支部講演集, 33, 117-120, 2001
- 13) Nakata et al.: Temperature effect on pathogens decline in the bio-toilet system, *Proceedings of Dry Toilet 2003, 1st Int. Dry-Toilet Conference*, 131-139, 2003
- 14) 好井久雄ら: 食品微生物ハンドブック, 技報堂, 74-119, 1995
- 15) Himathongkham S. et al.: Survival of *Escherichia coli* O157: H7 and *S. typhi*. in cow manure and cow manure slurry, *FEMS Microbiology Letter*, 178, 251-257, 1999