

N-4 し尿汚泥乾燥ケーキ・上水汚泥及び 廃菌床を原料とした連作障害抑止型 土壌改良材試作試験でのバチルス菌優占化

○吉田 智明^{1*}・宮里 直樹¹・青井 透¹・宇佐見 心²

¹群馬工業高等専門学校・専攻科環境工学専攻（〒371-0845群馬県前橋市鳥羽町580）

²東北大学・建築社会環境工学科（〒982-8579宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉04）

*E-mail: aoi@cvt.gunma-ct.ac.jp

1. はじめに

枯草菌（*Bacillus subtilis*：以下バチルス菌と称す）を優占種として運転するし尿処理施設（西吾妻衛生施設組合：群馬県嬬恋村）では、バチルス菌の胞子を大量に含む乾燥汚泥が発生している¹⁾。急速ろ過の浄水場ではアルミニウム(Al)とシルト、砂で構成された上水汚泥が大量に発生し、処理処分に困っている。また、群馬県内の主要産業の1つであるキノコ産業からは、大量の廃菌床が発生しており、有効な用途を模索している。

一方、群馬県内の商品作物として夏キャベツ（嬬恋村）、コンニャク（赤城山麓）やヤマトイモ（太田市屋島地区）が有名であるが、共に連作障害に苦慮しており、多種多量の農業により徹底的な土壌消毒を施しており、農民の健康被害も心配されており、土壌生態系は壊滅的な状態と思われる。

ところで、納豆菌でもあるバチルス菌は代表的な土壌細菌であり、土壌の団粒構造化を促進するといわれている。また、土壌中にバチルス菌が優占化すると土壌生態系が安定し、1g当たり10⁷個程度存在すれば、連作障害を抑えられる²⁾という報告がある。

上記した三種類の廃棄物を、発酵温度を抑えて培養すると、バチルス菌が優占化できるということは既に発表済みである¹⁾が、三種類の廃棄物の配合比を種々組み合わせ、生ゴミ処理機を用いて試作し、バチルス菌の増殖と優占化の最適条件、土壌改良材の成分分析等を検討したので報告する。

2. 実験方法

(1) 土壌改良材原料の配合比と試作方法

各材料を、図-1に示す生ゴミ処理機で混合発酵させた。各配合での実験(RUN)での、発酵期間および配

合量は、表-1に示した通りである。

表-1 土壌改良材各試作品の配合比とバチルスコロニー数

試料	コンポスト期間	配合(乾燥重量kg)			バチルス数 (個/g)
		し尿汚泥	上水汚泥	その他	
RUN 1	10/4-11/16	2.5	7.5	かつ0.5	8.0×10 ⁷
RUN 2	10/4-11/16	2.5	7.5	かつ0.5 廃菌床 0.45	1.4×10 ⁸
RUN 3	10/4-11/16	2	5	廃菌床 3	1.3×10 ⁸
RUN 4	10/4-11/16	2	5	廃菌床 3 かつ0.45	1.1×10 ⁸
RUN 5	11/18-12/16	2	5	廃菌床 3	1.4×10 ⁸
RUN 6	11/18-12/16	2	3	廃菌床 5	1.5×10 ⁸
RUN 7	11/18-12/16	1	5	廃菌床 4	1.0×10 ⁸
RUN 8	11/18-12/16	1	6	廃菌床 3	1.1×10 ⁸



図-1 発酵に用いた生ゴミ処理機（4台）

(2) バチルス菌の培養法およびコロニー数測定方法

蒸留水にニュートリエントブロス（Oxid-CM-1）を0.8%、グルコースを0.8%、塩化ナトリウムを0.6%、寒天を1.7%、水溶性デンプンを1.0%投入後加熱溶解し、オートクレープで滅菌した培地をシャーレに各々20ml注入して平板培地を作成した。この培地は2日間冷蔵保管すると、塗布できる状態に硬化する。試料の前処理は、各試料を50℃で乾燥させ、代表的な部分の乾燥質量1.0gを採取して、三角フラスコに入れ100mlの精製水で希釈した。この後、ホモジナイザーで2分間攪拌した。こうしてできた懸濁試料を10²倍の希釈試料とす

る。これを試験管にいった9mlの滅菌した生理食塩水（0.85%塩化ナトリウム溶液：予め500ml滅菌瓶にいった滅菌しておく）に1ml滴下して 10^3 の希釈試料を作る。この作業を繰り返して 10^4 、 10^5 、 10^6 の希釈試料を作る。固まった平面培地に希釈試料を0.1ml滴下し、コンラージ棒で平面培地の表面に均等に塗り広げる。試験結果の信頼性を高めるため、1つの希釈試料に対して2枚ずつ平面培地を作成した。こうして出来上がった平面培地を下向きにして、恒温槽で32℃前後に保ち培養した。

培養後のバチルスコロニーは形状が独特であり、他の菌と容易に見分けることができる。バチルス菌各コロニーを単離し、東京農工大学工学部細見研究室にてDNA解析を行い、種の同定を行った。その結果明らかになった種とコロニー形状との関係を図-2に示す。この区分に基づき、各バチルス菌のコロニー数とその他の菌のコロニー数を測定した。これらのバチルス菌のうち、*B. subtilis*は抗菌作用があり、連作障害を引き起こす病原菌に対する拮抗菌としての作用し、*B. thuringiensis*は野菜につく蝶や蛾の幼虫に対して殺虫作用があるとされているので、この2種類の菌を主に観測を行った。

コロニー数計測作業を、試料作成開始から約1週間おきに4回行い、菌種と菌数の変化を測定した。

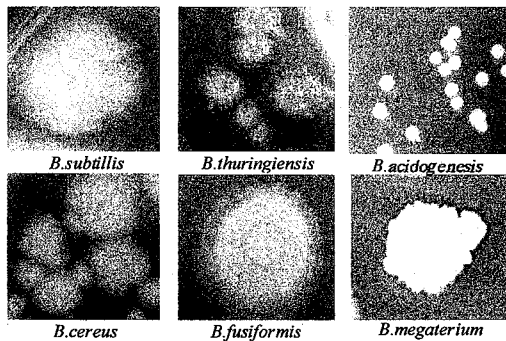


図-2 バチルスコロニーの形状とバチルス種

（3）土壌改良材中のバチルス菌の長期保存性検証

バチルス菌には、環境が悪化しても孢子化して生き延びることができる特性がある。この特性により、秋季に大量製造した土壌改良材を、特別な管理をせずに作りおいたとしても、春季に農地に投入するときまで、バチルス菌が十分に含まれた状態を維持することが望ましい。そこで、表-1に示した期間、生ゴミ処理機で発酵させた土壌改良材と、1月中旬頃まで室内放置したものに対しても、バチルス菌数の測定を行った。

（4）成分分析

土壌改良材として用いる際に、重金属類の有無の問題に留意する必要がある。また上水汚泥のAlによるリン飢餓発生の心配があるので、ク溶性リン酸の有無が重要である。そこで、環境計量事務所に依頼して含有試験を行った。

3. 結果及び考察

（1）土壌改良材の配合比とバチルスコロニー数

様々な配合で土壌改良材を試作し、1ヶ月間発酵させた後にバチルスコロニー数を観測した結果を、表-1に示した。全体的に見て、廃菌床を配合した試料にはバチルスコロニー数が多く計測されたが、開始時には多くの雑菌、カビ類も出現した。ところが、発酵の継続に伴いカビが検出されなくなり、ほぼ全ての試料において、バチルスコロニーは 10^8 個/g以上存在し優占化した。

（2）バチルスコロニー数及び優占化の経時変化

バチルス菌優占化の推移を調べるために、RUN1～4に対して、製造開始から定期的にバチルス菌の測定を実施し、その結果を表-2上段および図-3に示した。バチルス菌数は増加し、約2週間でバチルスコロニー数が安定した。それに伴いバチルス菌以外の菌（雑菌）が減少していき、時間の経過と共にほぼ検出されなくなり、バチルス菌の優占化が認められた。なお、表の△は雑菌が多くバチルス菌の優占化率が50%以下の状態、○はバチルス菌が全体の菌の50%から90%程



10/11採取

10/13採取

10/17採取

11/8採取

図-3 RUN2のバチルスコロニー数の経時変化にともなう優占化

度存在している状態、○は雑菌がほとんど見られず、バチルスが90%以上優占化している状態を示している。

RUN 5～8でも同様の測定を行い、その結果を表-2下段に示したが、こちらの配合では、約1週間で雑菌も少なく優占化が確認できた。この結果から、本製造方法により、バチルス菌を優占化させることができることがわかった。なお、し尿乾燥汚泥の優占種は *B. subtilis* であったにも関わらず、発酵後に優占種となったバチルス菌は *B. thuringiensis* とみられる。

表-2 バチルスコロニー数と優占化の推移

10/4土壌改良材化開始分				
試料	10/11採取	10/13採取	10/17採取	11/6採取
RUN1	1.2×10 ⁸ △	1.1×10 ⁸ ○	1.1×10 ⁸ ○	8.0×10 ⁷ ○
RUN2	7.0×10 ⁷ △	1.1×10 ⁸ ○	1.1×10 ⁸ ○	1.4×10 ⁸ ○
RUN3	5.5×10 ⁷ △	6.5×10 ⁷ ○	1.0×10 ⁸ ○	1.3×10 ⁸ ○
RUN4	4.5×10 ⁷ △	1.1×10 ⁸ ○	9.0×10 ⁷ ○	1.1×10 ⁸ ○

11/18土壌改良材化開始分				
試料	11/25採取	12/7採取	12/13採取	1/17採取
RUN5	1.3×10 ⁸ ○	1.8×10 ⁸ ○	1.4×10 ⁸ ○	4.0×10 ⁷ ○
RUN6	1.2×10 ⁸ ○	1.9×10 ⁸ ○	1.5×10 ⁸ ○	3.0×10 ⁷ ○
RUN7	1.5×10 ⁸ ○	1.9×10 ⁸ ○	1.0×10 ⁸ ○	4.0×10 ⁷ ○
RUN8	2.2×10 ⁸ ○	1.1×10 ⁸ ○	1.1×10 ⁸ ○	3.5×10 ⁷ ○

(3) バチルス菌の長期保存性についての検証

土壌改良材を最大で約半年間常温保存し、製造後1ヶ月と長期保存後のバチルス菌数を比較して図-4に示した。長期保存後でもバチルス菌数は2つの試料を除いて、10⁷個/g以上のコロニー数を維持していた。残りの2つの試料にも10⁶個/g以上いることがわかった。この検証から、胞子化したバチルス菌は、長期間安定して生存できることがわかった。

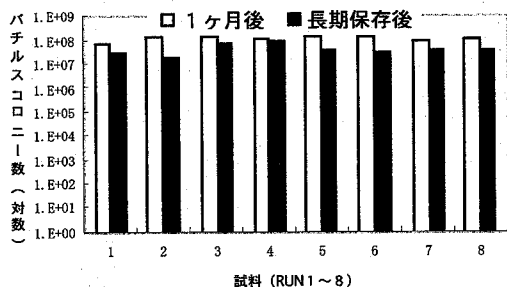


図-4 バチルスコロニーの保存性

(4) 試作土壌改良材の成分分析結果

環境計量事務所に依頼した成分分析の結果を表-4に示した。重金属類のヒ素、カドミウム、水銀、鉛については、原料や製造した試料は全て基準値を下回っていたが、より濃度を低下させるためには、し尿汚泥の

配合比を低下させた方が望ましいことがわかる。また、ク溶性リン酸が存在していることから、この試料は土壌中のリンを収奪することはないと思われる。

表-3 試作土壌改良材の成分分析結果一覧

	全窒素	リン酸	ク溶性リン酸	ヒ素	カドミウム	水銀	鉛
基準値				0.005	0.0005	0.0002	0.01
RUN1	1.3	1.49	0.59	0.0049	0.00009	<0.00002	0.001
RUN3	1.4	1.34	0.79	0.0035	0.00007	<0.00002	<0.001
廃菌床	2.5	0.94	0.79	<0.0005	<0.00005	<0.00002	<0.001
し尿汚泥 (西吾妻)	5.4	4.43			0.00017	0.00006	0.002
上水汚泥 (県央第一)	0.2	0.25			<0.00005	0.00003	0.003

注記：単位は乾燥質量パーセント、空欄は未測定
依頼日はし尿汚泥と上水汚泥は11/10、RUN1、RUN3、廃菌床は12/13

4. まとめ

生ゴミ処理機で約2週間以上混合発酵を行えば、どの配合でも確実にバチルス菌が優占化することがわかった。また、試作した土壌改良材は、長期保存後でも10⁷個/g以上のバチルス菌が存在していることがわかり、作り置きが可能であることもわかった。

望ましい配合比は、し尿汚泥1：上水汚泥5：廃菌床4程度と思われる。成分分析の結果からも有害な重金属類は基準値を下回り、ク溶性リン酸の含有も確認出来た。このことから、連作障害抑止型土壌改良材として使用できる可能性が高いと思われる。

謝辞

土壌改良材の原料に用いた廃菌床は、(株)横堀キノコプロダクションに協力いただいた。また、し尿乾燥汚泥は西吾妻衛生施設組合、上水汚泥には県央第一浄水場より受領した。バチルス菌の培養方法については、西吾妻衛生施設組合山崎補佐に御指導いただいた。バチルス菌のDNA解析は、東京農工大学工学部化学システム工学科の細見研究室の協力によるものである。本研究の一部は群馬県平成17年産学連携推進補助金、科学研究費及び新活性汚泥法技術研究会の助成により実施した。合わせて深く感謝し厚く御礼申し上げる。

参考文献

- 1) 青井透 竹淵和範 (2005) バチルス菌優占余剰汚泥と浄水汚泥・ケナフ破砕物から製造した連作障害抑止型土壌改良材、42回環境工学研究フォーラム講演集 pp16-18
- 2) HP「バチルス属 (Genus Bacillus)」<http://www.geocities.jp/aoiyamanonaka/farm/bacillus.htm> (2006/9/15)