

## バイオトイレにおける微生物感染リスクの実験的研究

### Experimental research of pathogenic microorganism risk in biological toilet

9830101 伊藤 由美子・大瀧 雅寛

Yumiko Ito AND Masahiro Otaki

お茶の水女子大学 環境工学研究室

#### 1. はじめに

近年、介護用トイレとして水を使わないバイオトイレが注目され始めている。このトイレは、多孔性物質(おがくず)を人工土壤としてそこに吸着させた微生物による好気性分解により、屎尿を水と炭酸ガスに変えるというものである。これは配管設備を必要としないため、どこにでも設置でき、ベットのそばにおいて使用することもできるため、トイレ使用者だけでなく介護する人の負担も大幅に軽減できるという利点がある。また、下水を排出しないため、窒素、リンなど湖沼、河川の富栄養化の原因物質も排出せず、処理後の残さ物も堆肥化が可能で環境への負荷が少ないという利点もある。

水洗トイレは元はといえれば人の身近な生活環から病原微生物を排除するために普及したものである。一方、バイオトイレは、屎尿を長時間にわたり滞留させるため、逆に病原体の発生源にもなりかねないと考えられる。しかし、このバイオトイレの衛生的安全性についての詳細な研究はこれまであまりない。本研究では、バイオトイレの安全性を調べるためにモデル微生物を実際に投入してバイオトイレにおける微生物の挙動を調べることを目的とする。

今回はその予備実験として、バイオトイレ内のおがくずに投入したモデル微生物をどのようにして回収・測定し、濃度を測定するかといった手法の検討を行い、微生物の挙動を実際のバイオトイレ担体を用いて観察した。

#### 2. 実験方法

##### 2.1 モデル微生物回収実験

模擬担体として水とおがくずを混合したもの(水:おがくず=10:10~90:10)を用い、大腸菌 *E. coli* K12、大腸菌ファージQ βを模擬担体に投入し、おがくずに付着した微生物の回収法を検討した。

##### 回収法

A. 直接測定法：微生物の混入した担体を適量量取り取り、そのままシャーレへ投入し、寒天培地により測定する方法。(以後、直接法という)

B. ビーフエキス抽出法：抽出液(3w/v%ビーフエキス)により担体に吸着した微生物を液層に抽出し、液中微生物を寒天培地により測定する方法。(以後、抽出法という)回収率は、以下の(1)式に従って計算した。

(実測した微生物濃度 [個/g])

$$\text{回収率}(\%) = \frac{\text{(実測した微生物濃度 [個/g])}}{\text{(微生物投入量により算定される論理微生物濃度 [個/g])}} \times 100$$

· · · · (1)

##### 2.2 実際のバイオトイレ担体を用いた微生物の回収実験

実際にバイオトイレで使用した担体を用い、大腸菌 *E. coli* K12、大腸菌ファージQ βを投入し、2.1 の模擬担体の結果と同様の回収率が得られるか検討した。担体に付着した微生物は抽出法により回収し、回収率は(1)の式に従って計算した。

##### 2.3 溫度変化による実際のバイオトイレ担体中における微生物の挙動観察実験

担体として、実際にバイオトイレで使用した担体を用い、これに微生物を投入した。担体の温度を37°C・45°Cに保ち、抽出法により、担体中の微生物濃度Nを一定間隔で連続的に測定し、微生物濃度変化を調べた。

##### 対象微生物

細菌：大腸菌 (*E. coli* K12 F<sup>+</sup> (Aλ)、*E. coli* C)

ウイルス：大腸菌ファージ (F 特異 RNA 大腸菌ファージ Q β、DNA 大腸菌ファージ T4)

※微生物は以下の計数法により濃度を測定した。

大腸菌：デスオキシコール酸塩培地を用いた選択培地によるコロニー法

大腸菌ファージ：ホストとして *E. coli* K12 を用いた2層寒天培地法によるブラック法

#### 3. 実験結果及び考察

Fig.1に実験2.1の結果を示す。直接法・抽出法共に、ファージの方が高い回収率が得られた。また、大腸菌、ファージ共に、直接法の方が高い回収率が得られたが、抽出法と比べると、その差はさほどではない。95%信頼区間を見ると、抽出法の方がばらつきが小さい。以上のことから、

高濃度の測定に対応できるという利点もあるため、抽出法を用いることにした。

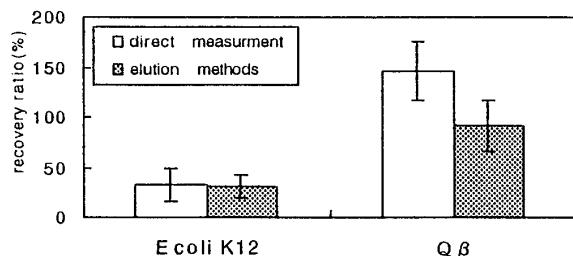


Fig.1 Comparing direct measurement with elution method of *E. coli* and *Q. beta*

Fig.2に実験2.2の結果を示す。大腸菌、大腸菌ファージとも、模擬担体の回収率と同じオーダーの回収率が得られ、実際にバイオトイレで利用したおがくずを担体として用いて実験を行っても支障がないと考えられた。

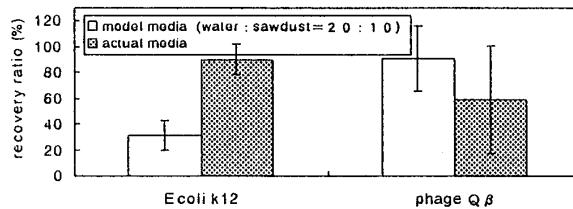


Fig.2 Comparing recovery ratio in model media with actual media

Fig.3に実験2.3により求められた大腸菌の濃度変化を示す。*E. coli* K12、*E. coli* Cとも、45°Cの方が大腸菌の減少速度が速いことが分かる。また、*E. coli* K12より*E. coli* Cの方が減少速度が速いことが分かった。また、今回扱った大腸菌に関しては、大腸菌の濃度は一次反応で減少することが分かった。

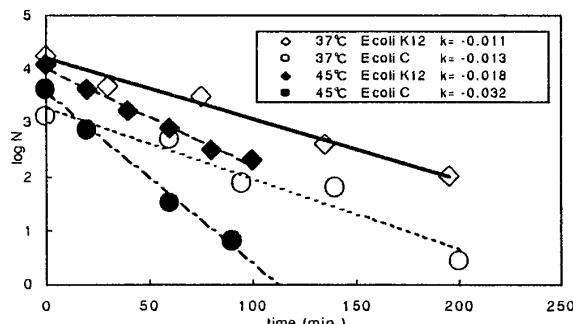


Fig.3 Change in *E. coli* concentration in actual media of biotoilet at 37°C & 45°C

Fig.4に実験2.3により求められた大腸菌ファージの濃度変化を示す。大腸菌ファージQ.β、T4とも、大腸菌の時と同様、45°Cの方が大腸菌ファージの減少速度が速いことが分かった。また、大腸菌ファージQ.βとT4はほぼ一次反応で減少

しているが、大腸菌ファージT4の減少速度は非常に小さいため、大腸菌ファージT4はバイオトイレ内では長く停滞することが分かった。

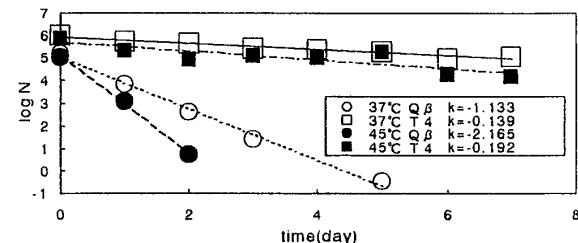


Fig.4 Change in phage concentration in actual media of biotoilet at 37°C & 45°C

大腸菌群は、ヒトの糞便1日当たり、 $10^8 \sim 10^{11}$ 存在する<sup>1)</sup>。従って、この大腸菌を全て死滅させる時間を

$$\log N/N_0 = -kt \quad \dots \dots \dots (2)$$

の式に従い求めると、Fig.3より、45°Cで約4~10時間必要ということが分かった。

下水処理では、大腸菌群は平均  $1.0 \times 10^5 / \text{ml}$  の流入濃度から、放流基準の  $3.0 \times 10^3 / \text{ml}$  以下へ減少させが必要とされる<sup>1)</sup>。つまり約 99% 除去以上が求められる。これをバイオトイレ内の担体に当てはめて考えると、(2)式と Fig.3 より、99%除去するのに、45°Cでは約 1~2 時間で達することが分かった。従ってバイオトイレは下水処理と同等以上の殺菌効果も要していることになる。

一方、ウイルスに関しては、下水処理においては明確な基準はないが、上記と同等に 99%の除去を行うと仮定すれば、(2)式と Fig.4 より、45°Cで、大腸菌ファージ *Q. beta* では約 3 時間、大腸菌ファージ T4 は 10.4 日必要となり、細菌とは全く異なる結果となった。

#### 4. まとめ

今回の実験結果から、バイオトイレにおける微生物の挙動は、大腸菌に関しては一定の割合で短時間で減少することが分かったが、ウイルスに関しては減少する速度が非常に小さく、長時間停滞するウイルスがあることが示唆される。これより、バイオトイレのリスクを考える時には、ウイルスの挙動を考慮する必要性が高いと考えられる。

#### 【参考文献】

- 1) 技報堂出版 水質衛生学 金子光美
- 2) 「バイオトイレにおける病原微生物感染リスク評価の適用」中川直子・大瀧雅寛 生活工学研究・第3巻・第2号
- 3) 東京大学都市工版 「大腸菌ファージ測定マニュアル」