

発表日	平成 29 年 10 月 25 日 (水)	発表形式	講演
所属・氏名	下水道水質課	小川 雅道	
発表名称	大腸菌数測定方法の検討について		
ジャンル	環境研究	部門	研究成果

1. はじめに

現在、国では大腸菌群数による環境基準を大腸菌数に変更することが検討されており、その測定方法も検討されている。本市でも国土交通省による全国調査で大腸菌群数と大腸菌数を同時に測定する検討試験を行い、特定酵素基質培地法(菌種により特異な酵素基質の反応を色素、蛍光色素で簡単に検出する方法)のコリラート QT トレイ法を用い処理水・放流水の大腸菌数・大腸菌群数を簡単に測定できることを H25 の局内発表会で報告した。その後本市単独で大腸菌群数、大腸菌数の測定法の検討を行い、同じく特定酵素基質培地のクロモアガー法と XM-G 法とコリラート法(以下“法”省略)を用い比較検討し、H27 の下水道研究発表会で報告した。今年はそれらの報告を補完する大腸菌数等の測定方法の追加検討として、HGMF(試料を疎水性格子付きメンブレンフィルターでろ過し、そのフィルターを培地に乗せ培養する方法)の追試と、特定酵素基質培地のうち、これまで検討していなかった EC ブルーの試験も行なったところ、知見が得られたので報告する。

2. 調査方法

調査期間は平成 29 年 4 月から同 29 年 9 月まで。試料は主に合流式の水再生センターの処理水、放流水をスポット採水した。EC ブルーは MPN プレートを用い、培養時間は 24 時間。以下測定値は特に指定しない限り個/mL とした。HGMF は、フィルターをクロモアガー培地上に密着させて 24 時間培養した。

3. 調査結果

図 1 は HGMF 法において、使用するフィルターのロットによる、大腸菌数の違いをみたものである。LotB(過去の試験値)は明らかに低く、LotA(今回の試験値)は高くなっている。図 2 は大腸菌群数について同様に検討したものであり、図 1 と同様に LotA が高い。

図 3 は大腸菌数について処理水と放流水を合わせてデソ法の大腸菌群数と比較したものである。回帰式を計算するとコリラート、XM-G、クロモアガーはほとんど同じ傾きを示した。過去の LotB の HGMF の相関係数が高かったが、傾きは低く、今回試験した LotA の傾きは推定値であるが、これまで検討した結果の中で一番高かった。

図 4 は放流水について、コリラートと EC ブルーでそれぞれの大腸菌数の関係を示すものである。線は $Y=X$ と EC ブルーとコリラートが同じ値を示すものであり、少ないデータではあるが、コリラートと EC ブルーは概ね同じ傾向であった。

表は大腸菌数と大腸菌群数の測定方法について、今回まで検討した結果を整理したものである。計数値はコリラートが一番高く、EC ブルーが同程度、クロモアガーと XM-G がそれに続き、HGMF はロットによる低値がなければ高い。

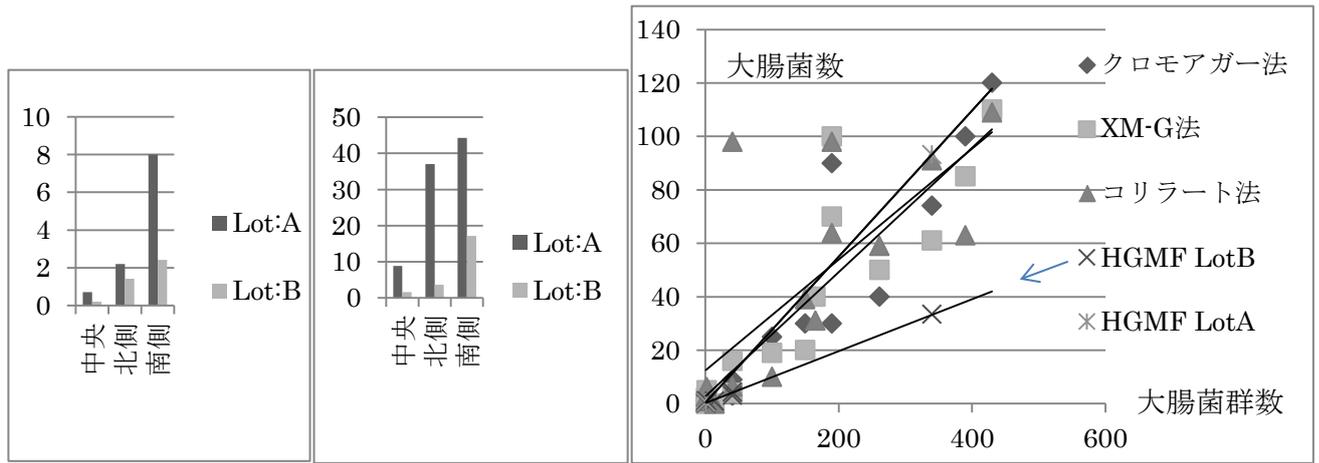


図 1 HGMF 法大腸菌数 図 2 HGMF 法大腸菌群数 図 3 各方法による大腸菌数とデゾ大腸菌群数

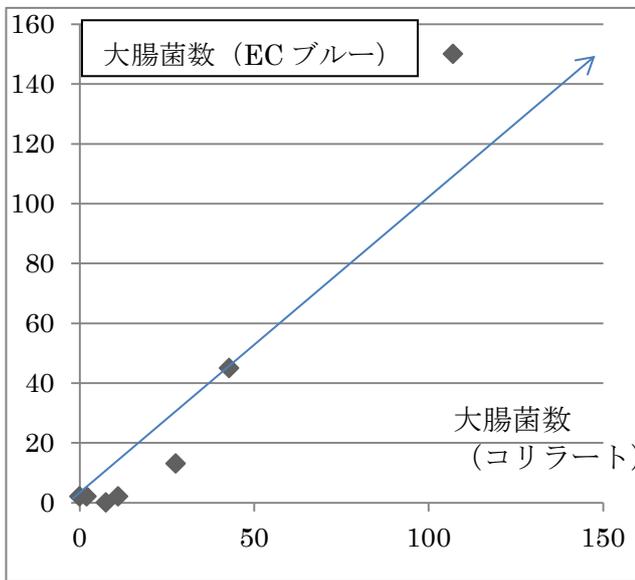


図 4 大腸菌数について、コリラートと EC ブルーの比較

培地とその形態	培地の調製	サンプルの希釈	培養時間	計数値大腸菌群 (大腸菌)	価格
クロモアガー-ECC (寒天)	寒天を溶かすよう電子レンジで加熱する。	1→10mL 100mLまで3段階希釈	24時間	大腸菌群はデゾより高い	高い
XM-G(寒天)	オートクレーブ要	1→10mL 100mLまで3段階希釈	20時間	同上(大腸菌はクロモとの差なし)	やや高い
コリラート(液体)	粉を溶かすだけ加熱する必要なし	高い倍率で希釈する必要あり 1000倍、100倍	24時間	QTTレイ使用 一番高い	一番高い
ECブルー(液体)	粉を溶かすだけ加熱する必要なし	高い倍率で希釈する必要あり 1000倍、100倍	24時間	MPNプレート 使用 コリラートと同程度	次に高い
HGMF(メンブレン) (寒天)		適当な希釈が必要	24時間	ロットによる低計数値に注意	高い
デゾ(寒天)	寒天を溶かすよう電子レンジで加熱する。	1→10mL 100mLまで3段階希釈	18時間	—	安い

表 各特定酵素基質培地法の特徴比較表 (参考としてデゾ培地含む) 処理水、放流水を対象として

培地の作成と培養時間では、クロモアガーは電子レンジで溶かせば良く、XM-G はオートクレーブ滅菌が必要だが、他の方法がすべて 24 時間培養に対し、20 時間で良い。試料の希釈はコリラートと EC ブルーは放流水でも高い希釈が必要で、HGMF も同様であるが、クロモアガーと XM-G はデゾより、少し計数値が高いが希釈倍率はデゾと同程度である。価格についてはコリラートが専用の使い捨てトレイを使用することもあって一番高く、次に MPN プレートを使う EC ブルー、培地自体が高価なクロモアガーは高いが、XM-G はそれに較べて安い。

今後は今回得られた各測定法のメリット、デメリットの結果を、下水処理水と放流水の大腸菌の測定法選定の一助としていきたい。

(参考文献)

- (1) 小川雅道、一戸直之(2013):水再生センター放流水中の大腸菌数調査について、平成 25 年度環境創造局 業務研究・改善事例発表会講演集、p124-125
- (2) 村岡麻衣子、折目孝子(2007): 酵素基質培地による下水試料の大腸菌群及び大腸菌の測定、第 44 回下水道研究発表会講演集、p922-924
- (3) 小川雅道、一戸直之(2015):大腸菌試験方法の検討 第 44 回下水道研究発表会講演集、p1034-1036