



発表テーマ

『下水における大腸菌数の測定方法 検討及び時間帯変動調査』

【所属・氏名】

下水道水質課

小川雅道



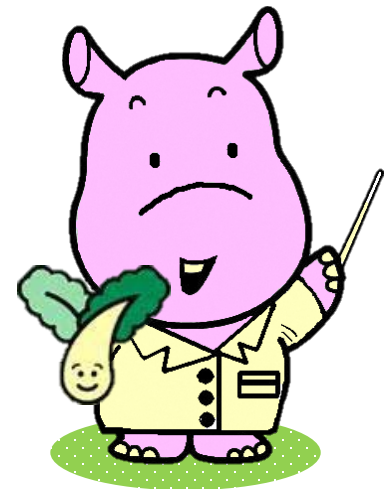


○当該研究・事業・改善等の目的

- ・ 下水試料での大腸菌試験方法の検討
- ・ 下水処理における大腸菌数の時間変動の把握

○得られた効果

- ・ 下水でも大腸菌が測定可能と確認
- ・ 大腸菌数の流入下水・処理水の経時変化を調べることができた。



発表の流れ

- 大腸菌と大腸菌群について
- 特定酵素基質培地について
- 検討の背景について
- 大腸菌測定検討結果について
- 水処理における大腸菌数の実態について
- 大腸菌数とふん便性大腸菌群数の関係について

大腸菌と大腸菌群の関係について

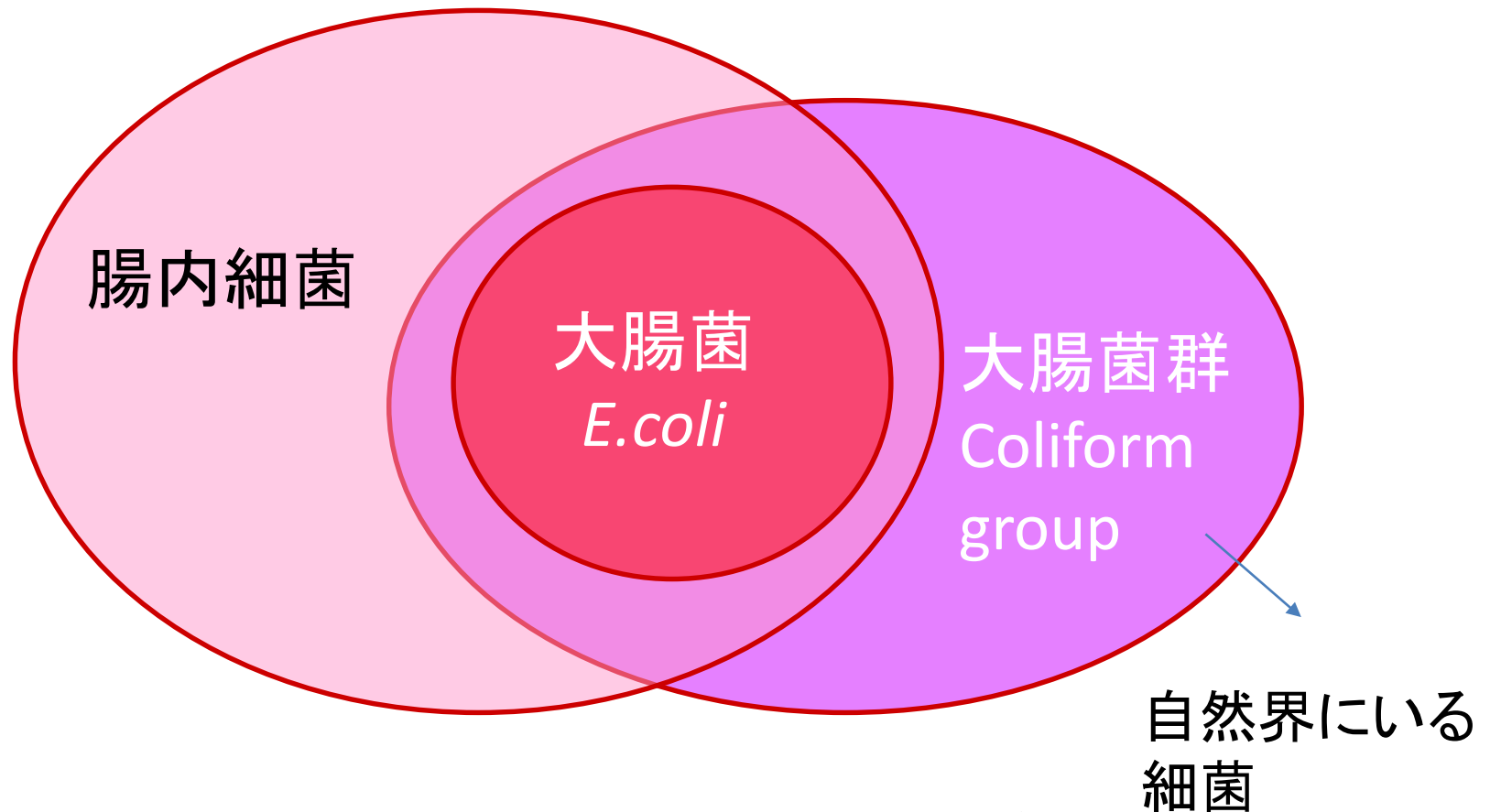


図1 大腸菌と大腸菌群の分類イメージ

大腸菌群と大腸菌の測定方法

大腸菌群

メリット

培地にそれほど特別な成分は必要なく、
培養しやすい

デメリット

大腸菌以外の菌も
増殖してしまう
(土壌など由来の汚染も
含まれてしまう)

大腸菌

メリット

ふん便性の汚れ具合を
正確に評価できる

デメリット

大腸菌以外の増殖を抑制
または
大腸菌のみを染色
するような成分が必要
なため、高価

特定酵素基質培地法について

(ほぼ)大腸菌のみしか持っていない酵素により、
特殊な基質が代謝され、目印となる色素ができる
(現在検討しているクロモアガー E.coli の場合は青色)。

環境水ではこの方法が採用されている

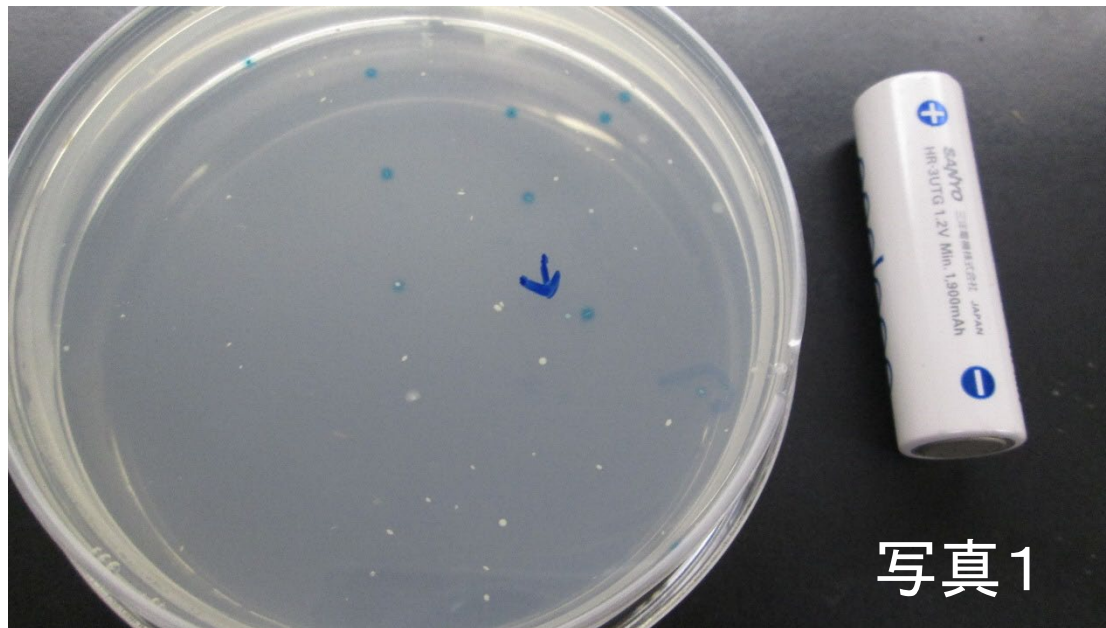
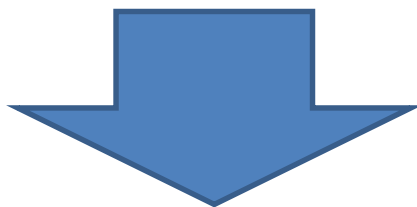


写真1

検討の背景

令和4年4月1日

水質汚濁に係る環境基準について大腸菌群数に代わって大腸菌数の環境基準と測定方法が示された



事業所からの排水基準項目についても大腸菌群数から大腸菌数への変更が検討されている

排水基準項目変更の動き

国土交通省

H24 全国の処理場から消毒方法、細菌試験の結果等の
情報収集



H30 様々な測定方法で大腸菌数測定の見直し



R1 特定酵素基質培地を採用し全国に調査依頼

排水基準項目変更に対する当課の対応

下水道水質課

H25 国交省調査を受け、大腸菌数測定の見直し開始



H27 各種培地、測定方法での大腸菌試験の見直し



R1 本市は特定酵素基質培地のクロモアガーE.coli で
全国調査に参加

課題

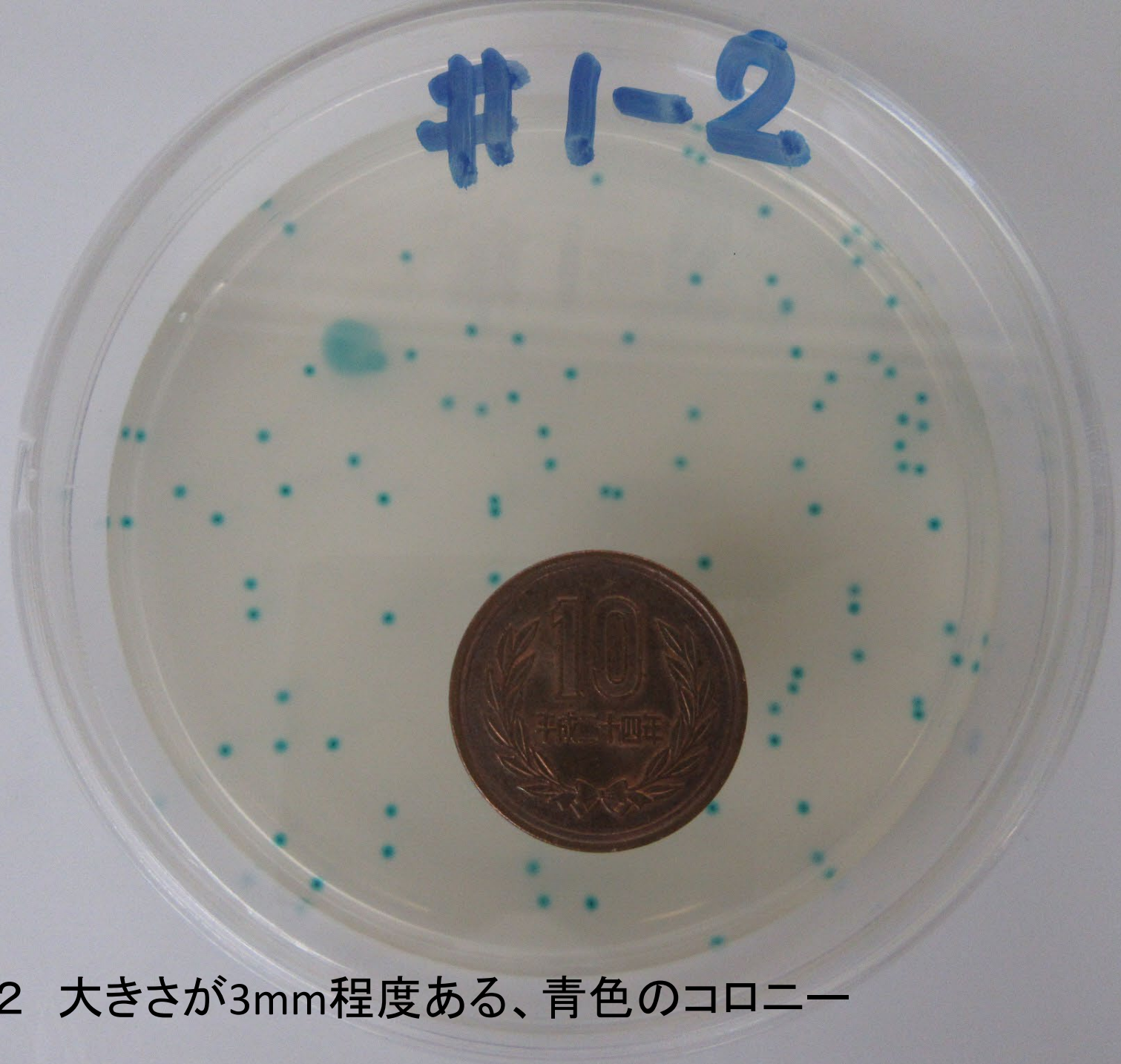
特定酵素基質培地を使用するにあたって

- 大腸菌以外の細菌でも、その酵素を持っていれば、青く染まってしまう。
- 大腸菌であっても、色の付き方が薄い場合もある



どの程度の大きさや色のコロニーであれば、大腸菌なのか。計測する際の指標を決めたい。

実際に処理水、放流水を培養して現れた様々な大きさ、色のコロニーを拾い上げ、同定する。



#1-2

写真2 大きさが3mm程度ある、青色のコロニー

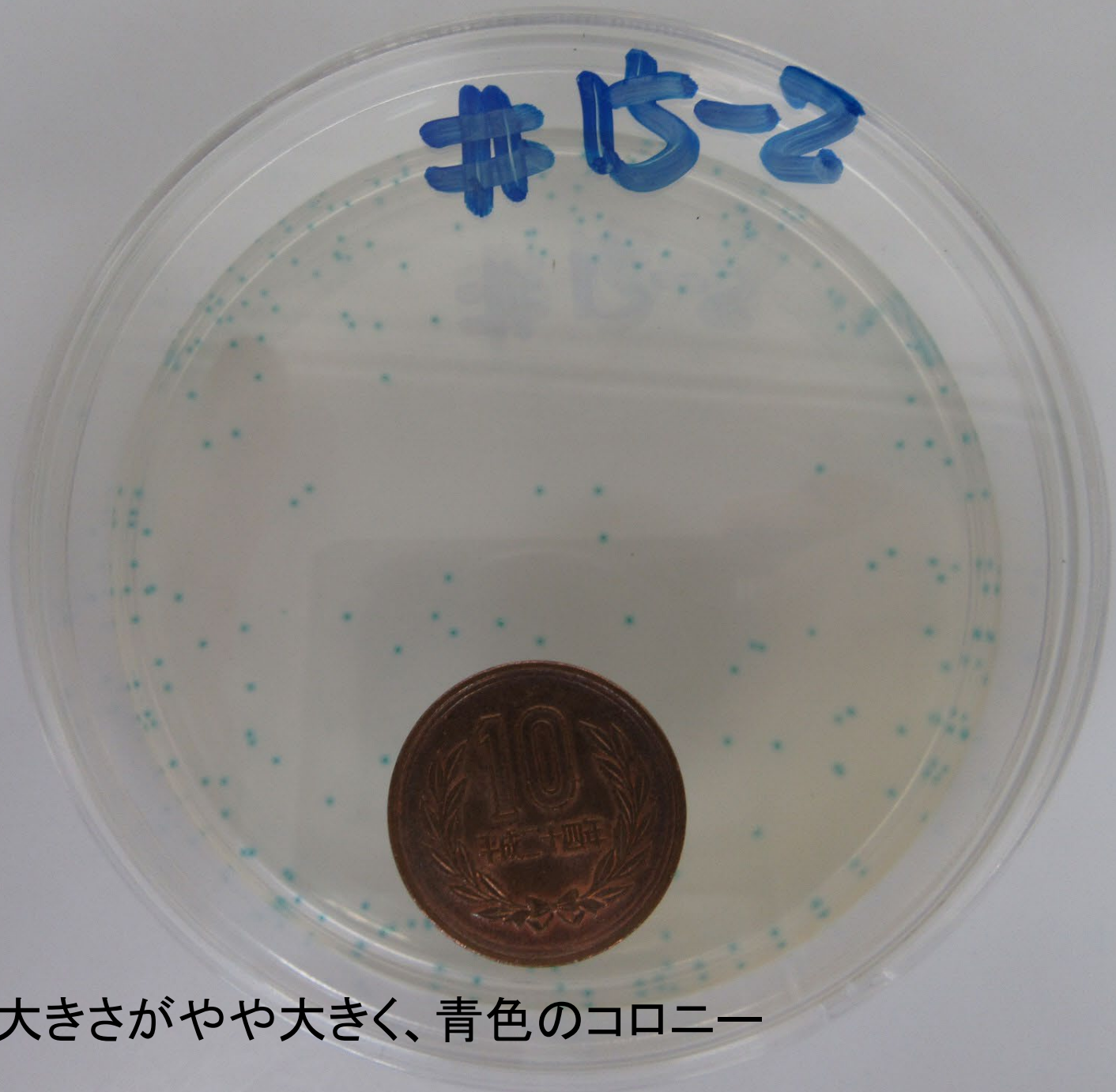


写真3 大きさがやや大きく、青色のコロニー

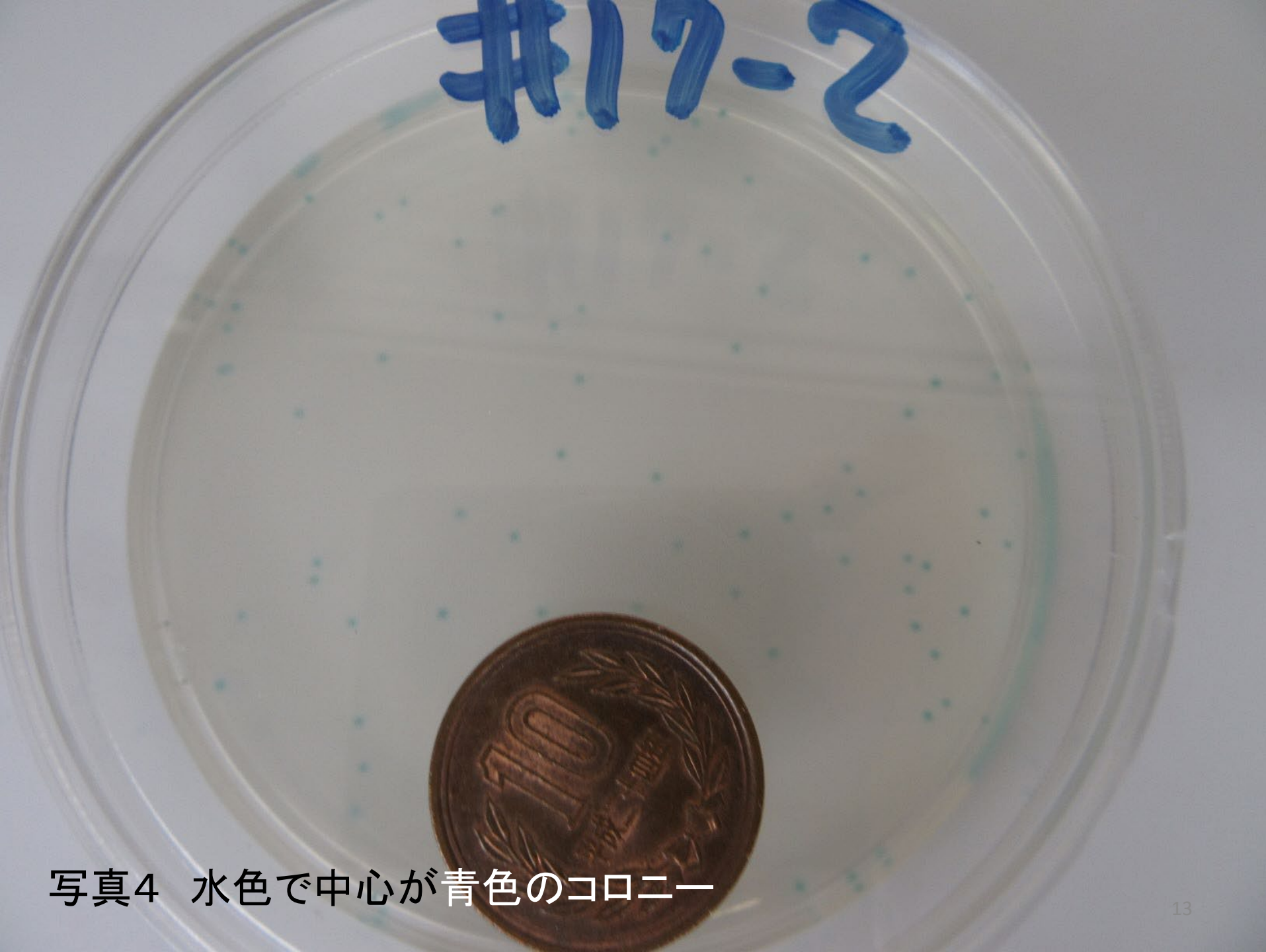


写真4 水色で中心が青色のコロニー

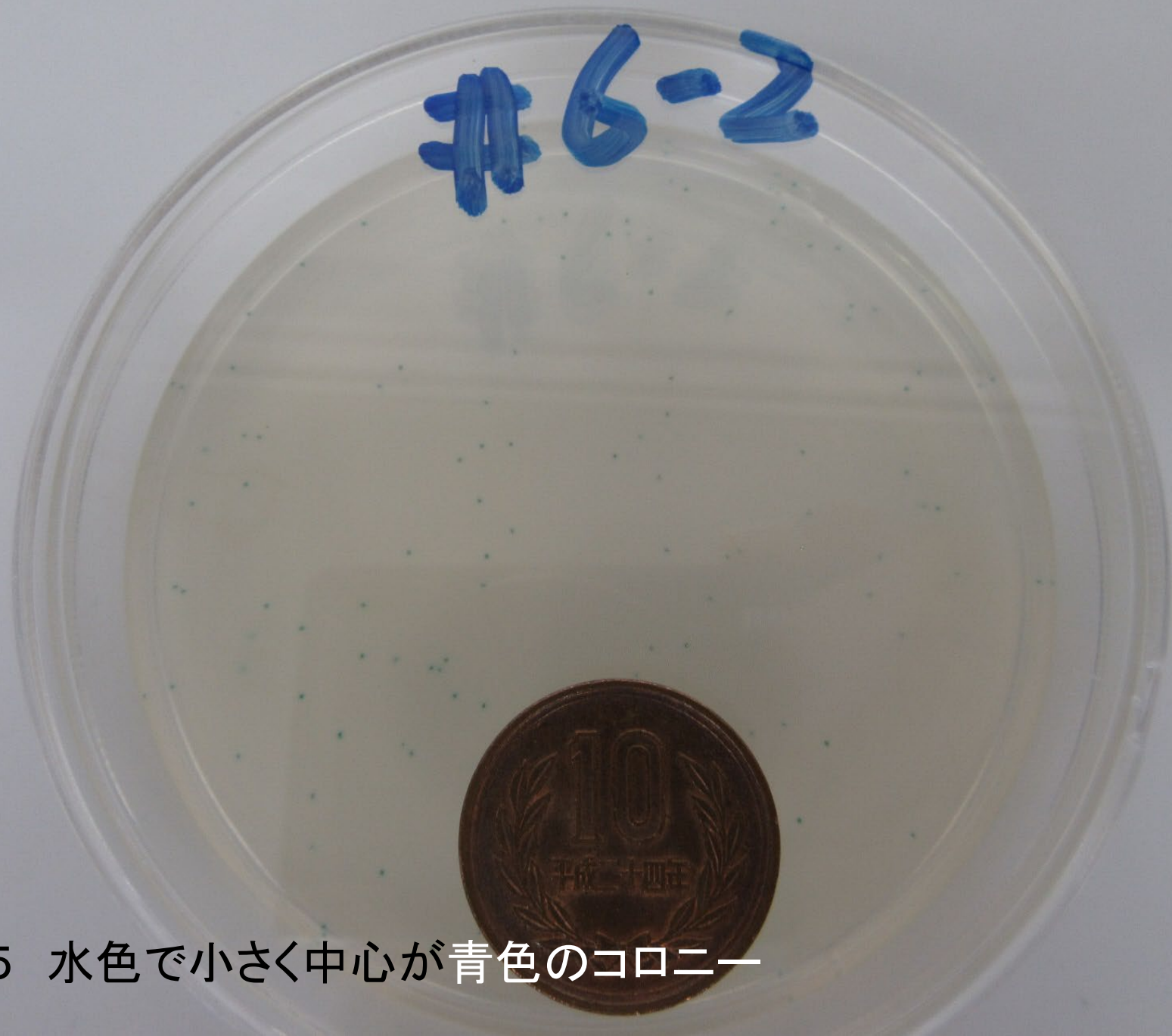


写真5 水色で小さく中心が青色のコロニー

表一1 クロモアガー E.coli に出現したコロニーの同定結果

調査した コロニー数	コロニー形状		同定結果
	大きさ	色	
n = 5	大きい(2mm)	青	<i>E.coli</i>
n = 2	やや大きい	青	<i>E.coli</i>
n = 5	中くらい(1mm)	中心が青	<i>E.coli</i>
n = 4	やや小さい	水色で中心が青	<i>E.coli</i>
n = 3	小さい(1mm以下)	水色で中心が青	<i>E.coli</i>
n = 1	極めて小さい	青	<i>E.coli</i>
n = 5	大きい(2mm)	白色	<i>K. pneumoniae</i> 等

- : 同定にはグラム陰性桿菌同定キット(IDテスト・EB-20)を使用

大きさにかかわらず、少しでも青色を呈していれば大腸菌であると確認できた。

下水でも、特定酵素基質培地のクロモアガー E.coli を用いて
測定が可能

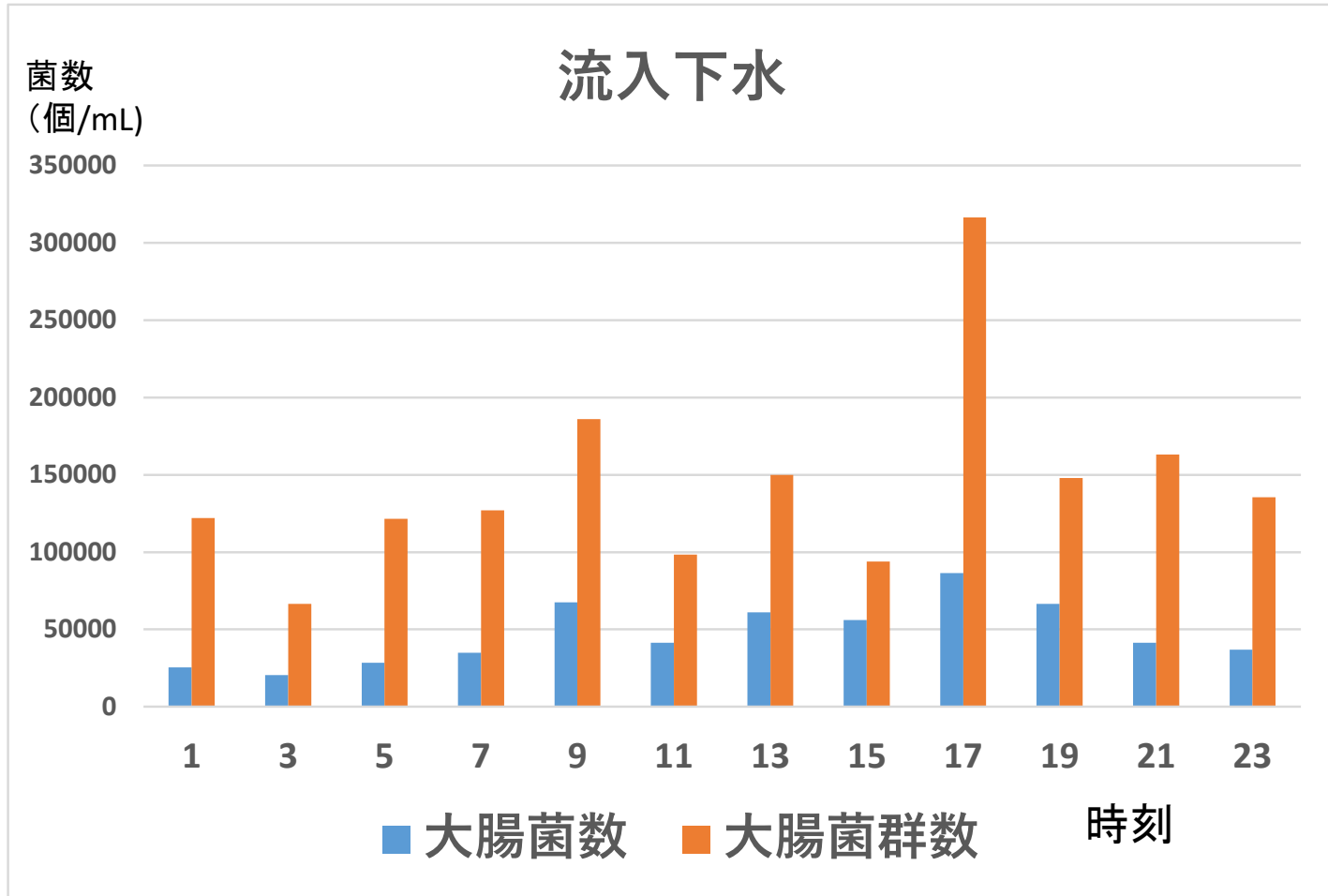
下水における大腸菌数時間帯変動調査

大腸菌群数は時間帯によって変動することが知られている。



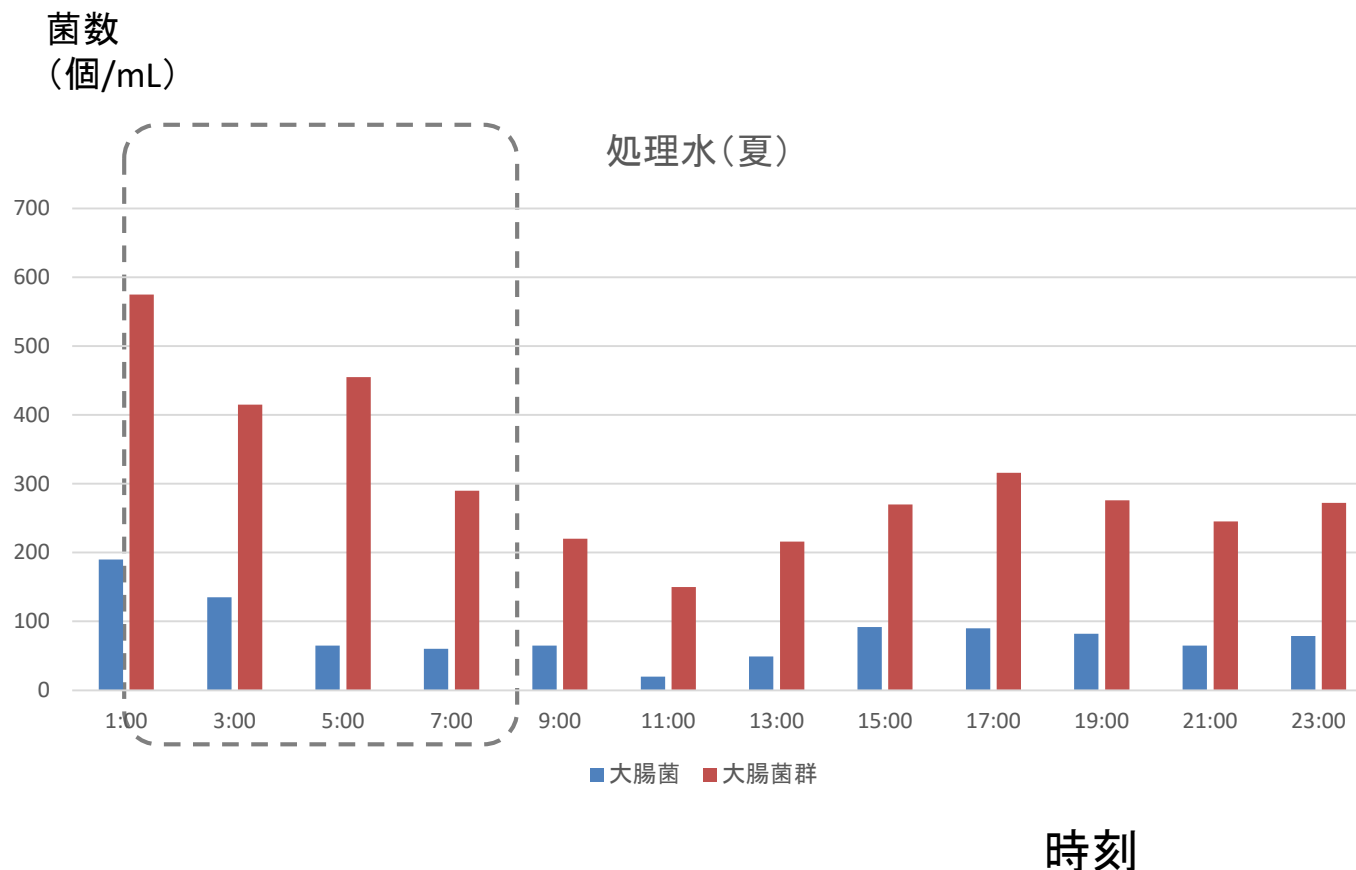
大腸菌数についても時間帯別に調査を行った。

下水における大腸菌数時間帯変動調査



図一2 大腸菌数, 大腸菌群数のセンター通日試験結果(流入下水)

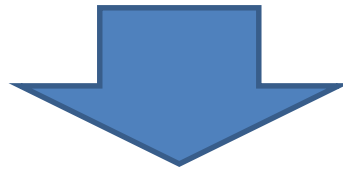
下水における大腸菌数時間帯変動調査



図一3 大腸菌数, 大腸菌群数のセンター通日試験結果(処理水)

ふん便性大腸菌群数について

ふん便性の汚染を測定する方法で、培養する温度を高く（44.5℃、通常は37℃）することで、他の菌の増殖を抑制し大腸菌などを選択的に増殖させ、大腸菌群よりもふん便性の汚染をより正確にはかることができる。

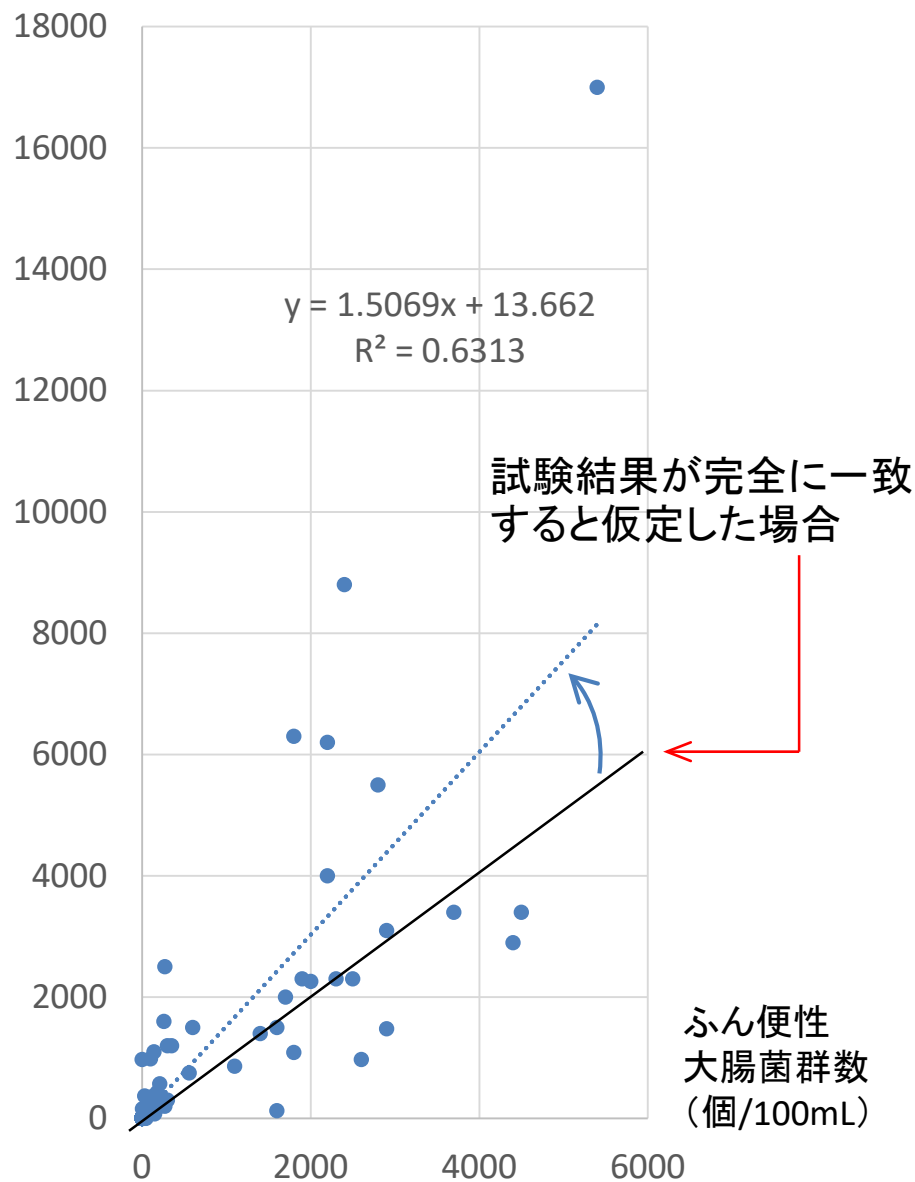


従前のふん便性大腸菌群の試験結果と、
特定酵素基質培地の大腸菌試験結果を比較した。

ふん便性大腸菌群数と大腸菌数の比較

ふん便性大腸菌群数よりも、特定酵素基質培地を用いた大腸菌数の方が、やや高い数値となることが分かった。

大腸菌数
(個/100mL)



図一4 ふん便性大腸菌群と大腸菌

まとめ

- 1 特定酵素基質培地に生えてくる青色のコロニーについてはすべて大腸菌であった。
- 2 センター流入水、処理水の大腸菌数は大腸菌群数と時間帯別にある程度同じ挙動を示したが、完全には一致しなかった。
- 3 大腸菌数は従前のふん便性大腸菌群数よりも、高い値が出る傾向がある。