

[自主研究]

# 埼玉県内の親水空間における大腸菌数の現状把握

渡邊圭司 池田和弘 柿本貴志 見島伊織 梅沢夏実 木持謙 田中仁志

## 1 背景と目的

環境水中の病原微生物は、人が水に接することで感染する恐れがあり、そのリスク管理は重要な課題である。それら病原微生物の主な発生源は、人畜(温血動物)の糞便である。これまで長きにわたり、糞便汚染指標は、大腸菌群数として表されてきた。公共用水域水質常時監視では、大腸菌群数はBGLB最確数法(BGLB法)により求められる。しかし、BGLB法では、測定方法の原理上糞便汚染に全く関係の無い一部の水中や土壌に生息している細菌も同時に大腸菌群として検出されてしまうため、糞便汚染の実態を過大評価しているという問題点が指摘されている。近年、より直接的な糞便汚染の指標となる大腸菌数を、簡便かつ迅速に測定することができる特定酵素基質培地法が考案された。このような測定技術の進歩から、大腸菌数を新たな糞便汚染の指標として環境基準項目に加えるべく、環境省による基準化の検討が進んでいる。このような背景を踏まえ、本研究では、大腸菌数の測定技術に関する基礎的検討(培地、フィルター、試料の保存温度や保存期間の影響)及び埼玉県内の親水空間(レジャースポット、観光スポット、河畔整備されて親水空間となっている場所及び水環境や生き物に関する体験型学習イベントを行っている場所など)における大腸菌数の現状把握を本研究の目的とした。本年度については、測定技術に関する基礎的検討を行った。

## 2 方法

### 2.1 市販培地の種類と大腸菌数の関係

大腸菌数の測定では、使用する測定器具や市販培地に関するメーカーの指定は基本的に無いため、使用する器具や培地の選択により、測定値に違いが生じる可能性がある。ここでは、市販の特定酵素基質培地の違いが大腸菌の計測数に影響するのかを検討した。市販の特定基質酵素培地は、ESコリマーク(栄研化学)、XM-G(日水製薬)、クロモアガーECC(関東化学)、クロモカルトコリフォーム(メルク)及びトリコロール(エルメックス)の5種類を用いた。試水は、2017年8月1日、9月5日の兜川合流点前、8月3日、9月6日の一の橋、8月9日、9月7日の行幸橋及び8月24日、9月13日の御成橋で採取した計8試料とした。メンブレンフィルターはMF-ミリポアメンブレン(メルク)とし、各試料、各培地につき5連で繰り返し試験を行った。

### 2.2 メンブレンフィルターの種類と大腸菌数の関係

ここでは、使用するメンブレンフィルターの種類が大腸菌の計測数に影響するのかを検討した。メンブレンフィルターの仕様は、直径47mm、親水性セルロース混合エステル、平均粒子

保持径0.45  $\mu$ mの微生物検査用のものとした。市販のメンブレンフィルターとして、エステルメンブレンフィルター(アドバンテック)、GN-6メトリセル・メンブレン(ポール)、MF-ミリポアメンブレン(メルク)の3種類を用いた。試水は、2017年10月3日、11月7日の兜川合流点前、10月5日、11月8日の一の橋、10月4日、11月1日の行幸橋及び10月6日、11月6日の御成橋で採取した計8試料とした。培地はクロモアガーECC(関東化学)とし、各フィルター、各試料につき5連で繰り返し試験を行った。

### 2.3 試料の保存温度と保存期間が大腸菌数に与える影響

採水した試料の保存温度や保存期間が大腸菌数の計測値に与える影響を調べることは、再分析などを行う際の重要な基礎的知見となる。ここでは、保温温度を5℃、25℃、35℃に設定した恒温器3台を準備し、保存期間は1～6日目までは毎日、最後に9日目の測定を行い、保存温度と保存期間が大腸菌数の計測値に与える影響を調べた。測定は、各保存温度及び各保存期間につき5連で繰り返し試験を行った。

## 3 結果及び考察

### 3.1 市販培地の種類と大腸菌数の関係

クロモカルトコリフォーム培地を使用した場合、2017年8月1日、9月5日の兜川合流点前で採取した2試料を除き、他の培地と比較して大腸菌数は高い値を示した。以上のことから、クロモカルトコリフォーム培地は、他の培地と比べて大腸菌の検出感度が高いと推測された。しかしながら、他の培地と比べ呈色したコロニーの滲みが強く、またいくつか極小の大腸菌コロニーを生じるため、コロニーの判別が難しいという特徴が見られた。

### 3.2 メンブレンフィルターの種類と大腸菌数の関係

メンブレンフィルターの種類の違いは、大腸菌の計測数に与える影響は無かった。しかしながら、GN-6メトリセル・メンブレンは、大腸菌群のコロニーに滲みが見られ、大腸菌コロニーの判別が難しい場合が見られた。また、エステルメンブレンフィルターは、フィルターホルダーから剥がす際に、フィルターに破れが生じるケースがあった。

### 3.3 試料の保存温度と保存期間が大腸菌数に与える影響

試料の保存温度が35℃では、試料により1日経過すると採水日当日に計測した時と比べて、大腸菌数が半分以下になる場合が見られた。一方、試料保存温度が5℃及び25℃では、1日経過後も採水日当日と同等の大腸菌数が得られた。以上の結果より、再分析する際には25℃以下で試料を保存すれば次の日くらいまでは採水日と同等の大腸菌数が得られることが示された。