

# メンブランフィルター法による河川水中の ふん便性大腸菌群の検討

## Study on the Fecal Coliform of River Water by Membram Filter Method

赤石 尚一 佐藤 泰昌 市川 修三 高杉 信男

Shyoichi Akaishi, Yasumasa Sato, Shyuzo Ichikawa,  
and Nobuo Takasugi

メンブランフィルター法により河川水中のふん便性大腸菌群を精度よく検出することができた。  
メンブランフィルター法によるふん便性大腸菌群の検出は、河川のふん便状染状況を把握する上で、  
極めて有効な方法である。

### 1 緒 言

河川のふん便による水質汚濁の指標として河川  
水中の大腸菌群検査を実施している。

従来、河川における大腸菌群検査は、環境基準  
に基づき最確数法（以下「MPN法」）により大  
腸菌群（Total Coliform 以下「TC」）を検出  
しており、また、これに基づいて河川類型別に環  
境基準が定められている。

河川における大腸菌群の環境基準達成率は極め  
て低いことが全国的な傾向として報告されている  
が<sup>2)</sup>、札幌市内の河川においても同様の傾向が見  
られる。

このことは、TCが“グラム陰性無芽胞の桿菌  
で乳糖を分解しガスを発生する好気性又は通性嫌  
気性菌”として定義される菌の総称であり、人畜  
のふん便中には存在しない菌を多く含んでいる  
ことによるものと考えられ、近年、ふん便性大腸  
菌群（Fecal Coliform 以下「FC」）をはじめ  
腸球菌、コプロスタノール等、TC以外のよりふ  
ん便汚染の指標性の高い検査法の確立が急務と  
されている。<sup>2)~6)</sup>

そこで、われわれは、河川水中のFCの検査法  
として、昭和58年10月環境庁水質基準検討会によ  
り水浴場水質評価法<sup>1)</sup>として採用されたメンブラ  
ンフィルター法（以下「MFC法」）を市内河川水に  
適用し、MFC法による河川水中のFCの検出に  
ついて検討し、併せてTCとFCについて比較検  
討を行い若干の知見を得たので報告する。

### 2 方 法

#### 2-1 検 体

##### 2-1-1 FC浮遊液

適当量のヒトふん便を1%ペプトン水に加え調  
製し、これをFC浮遊液とした。

##### 2-1-2 河川水

昭和59年6月、7月の2カ月間、公害部が市内  
河川で採取した72検体の1部を検水とした

#### 2-2 MFC法によるFCの検討

##### 2-2-1 FCの検出条件

試料の希釈方法、培地調整法、培養温度、培養  
時間等、FCの検出条件について検討した。

メンブランフィルター（以下「フィルター」）

上に発生したコロニーのうち、*E. coli*と同様の色調等を呈するコロニーをFCの典型的コロニーとして、他のコロニーとの識別法について検討した。

### 2-2-2 生化学的性状

生化学的性状の検査はフィルター上に発生したコロニーを白金耳で釣菌し、普通寒天培地で増菌後、パイルチューブNo.1（栄研化学）、IDテストEB 20（日水）を用いて行った。

フィルター上に発生したコロニーを肉眼により典型、非典型に識別し、生化学的性状による各々の菌の同定を行いFCの検出率について検討した。

### 2-3 河川水中TC、FCの検討

TCは、環境基準に定める方法に従い、BGLB培地を5本ずつ連続希釈し37°C48時間培養後のガス発生陽性管数から最確数表により100 ml中の大腸菌群数（MPN/100 ml）として求めた。

FCは、フィルター上に適当な数のFCコロニーが発生するように検水を希釈し、ろ過したフィルターをMFC培地上に密着し、44.5°C、24時間培養後、フィルター上に発生したコロニー中、典型的なFCコロニーを数え、検水の希釈倍率から100 ml中のFC数（個/100 ml）として求めた。

## 3 結果及び考察

### 3-1 FCの検出条件

#### 3-1-1 検水の希釈

検水中のTCとFCの割合により希釈条件は異なるが、河川水においては、フィルター上に発生するコロニー数が30個程度になるよう検水を希釈したところ鮮明なコロニーが得られた。

#### 3-1-2 培養温度及び培養時間

培養は、温度調節感度 $\pm 0.02^\circ\text{C}$ の恒温水槽を用いた。

培養温度、44.5°C、培養時間24時間において均一で典型的なFCコロニーを生成し、非典型コロニーと肉眼により容易に識別することができた。

なお、 $44.5 \pm 0.2^\circ\text{C}$ の温度範囲外、及び、24時間以上の培養条件になるとFCコロニーの色調等が不鮮明になり他のコロニーとの識別が困難であった。

### 3-2 FCの検討

#### 3-2-1 コロニーの識別

フィルター上に発生するコロニーを典型的なFCコロニーと非典型的なコロニーに肉眼的に識別することが出来た。

典型的なFCコロニーは、全体に均一な濃い青色でやや扁平、湿潤性に貧しく、条件によっては中心が褐色味をおびることがあった。

非典型的なコロニーは緑色ないしはうぐいす色、黄色ないしは褐色、ピンクないしは橙色、白色の色調を呈し、いずれも湿潤性があり、FCに比べて隆盛したコロニーであった。

#### 3-2-2 生化学的性状

肉眼で識別できた典型的なコロニー28個と非典型的なコロニー48個の生化学的性状による菌の同定を行った。

その結果、典型的なコロニー28個はすべて *E. coli* であった。

また、非典型的なコロニー48個のうち43個（89.6%）が*E. coli*以外の菌であり、5個（10.4%）が*E. coli*であった（表1）。

フィルター上に発生したコロニーの主なものは、*E. coli*、*K. pneumoniae*、*E. cloacae*、*C. freundii*、であった。また、各々の菌の検出率は河川によって異なるが、平均*E. coli*（66.6%）、*K. pneumoniae*（19.1%）、*C. freundii*（6.5%）、*E. cloacae*（4.3%）であった。

以上のことから、フィルター上に発生するコロニーを肉眼的に識別でき、簡便にかつ精度よくFCを検出することができた。

表1 コロニーの識別結果

コロニーの色調等		肉眼的識別		生化学的性状		%
		菌名	件数	菌名	件数	
典型	全体に均一な濃い青色で、扁平、周囲にリングはなく、ややコンペイトウ状となり、時に中心部が褐色を呈することもある。	E. coli	28	E. coli	28	100
非典型	中心が青～濃い青色であまり大きくない。湿潤性があり、隆盛している。	E. cloacae	4	E. cloacae	3	75.0
				その他	1	25.0
典型	全体に均一な緑色～薄い青色で大きい。湿潤性があり、光沢がある隆盛したコロニー。	K. pneumoniae	8	K. pneumoniae	6	75
				E. coli	1	12.5
非典型	全体に均一な黄色～褐色で大きい。湿潤性、光沢があり、隆盛している。	K. pneumoniae	22	K. pneumoniae	13	59.1
				E. coli	4	18.2
非典型	全体に、ピンク～橙色で小さなコロニー。	C. freundii その他	14	C. freundii	6	42.9
				その他	8	57.1

% は、肉眼的に識別したコロニー中の生化学的性状により同定した菌の割合。

3-3 河川水中のTC, FC

人畜によるふん便汚染が少ないと考えられる代

3-3-1 TC中に占めるFCの割合

表的3地点のTC中に占めるFCの割合は0%~

市内河川水72検体におけるTC中に占めるFCの割合は、0%~48%と広い範囲であったが、57検体は0%~15%の範囲で検出された(表2)。

0.3%であり、FC以外の菌による影響の大きいことが認められた(表3)。

表2 大腸菌群中に占めるふん便性大腸菌群の割合

%	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
検体数	12	8	5	3	6	7	3	1	1	3	5		2	1		1	2	1	2	1		1		
%	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
検体数	1		2						2				1											1

表3 河川類型別検出結果

類型	MPN	MFC	%	類型	MPN	MFC	%
A	2.2E+03	1.0E+01	0.5	B	2.3E+04	1.1E+02	0.5
	1.1E+02	2.4E+01	21.8		1.3E+04	7.0E+02	5.4
	8.0E+01	1.4E+01	17.5		1.7E+05	2.9E+02	0.2
	7.9E+02	2.9E+02	36.7		7.9E+03	1.3E+03	16.5
	4.9E+03	6.0E+00	0.1		3.3E+04	6.0E+03	18.2
	3.3E+03	4.0E+01	1.2		3.3E+04	5.6E+03	17.0
	4.9E+02	1.3E+02	26.5		7.9E+03	1.9E+03	24.1
	1.3E+03	2.6E+01	2.0		7.0E+03	3.2E+02	4.6
	1.1E+02	2.4E+01	21.8		3.3E+03	4.0E+02	12.1
	4.9E+02	1.4E+01	2.9		1.7E+04	3.4E+02	2.0
	3.3E+03	3.3E+02	10.0		7.9E+04	1.2E+03	1.5
	4.9E+03	1.6E+02	3.3		1.3E+04	8.4E+02	6.5
	1.1E+03	1.7E+02	15.5		1.7E+03	2.0E+01	1.2
	5.0E+01	0.0E+00	0.0		4.6E+03	3.4E+01	0.7
	3.3E+03	1.0E+01	0.3		1.7E+04	2.1E+03	12.4
	3.3E+03	1.6E+02	4.8		1.3E+05	1.6E+03	1.2
4.9E+02	3.0E+01	6.1	4.9E+04	1.8E+03	3.7		
4.9E+03	9.0E+01	1.8	3.3E+04	3.0E+03	9.1		
B	4.6E+02	2.0E+01	4.3	2.4E+05	6.0E+03	2.5	
	3.3E+02	1.6E+02	48.5	3.5E+05	1.1E+03	0.3	
	2.4E+05	5.8E+03	2.4	2.2E+03	1.0E+02	4.5	
	4.9E+04	4.0E+03	8.2	7.9E+04	2.6E+04	32.9	
	2.3E+05	9.6E+03	4.2	1.3E+03	7.0E+01	5.4	
	2.3E+03	1.2E+02	5.2	1.7E+04	4.5E+03	26.5	
	3.3E+03	3.3E+02	10.0	1.3E+05	1.1E+04	8.5	
	7.9E+03	8.0E+01	1.0	E	1.1E+05	1.0E+04	9.1
	3.3E+04	9.0E+01	0.3		1.1E+05	2.0E+04	18.2
	4.9E+02	2.8E+01	5.7		2.3E+02	3.0E+01	13.0
	2.3E+03	1.3E+02	5.7		9.2E+04	3.0E+04	32.6
	7.0E+02	3.0E+01	4.3		2.4E+04	1.2E+03	5.0
	7.9E+03	1.4E+02	1.8		4.9E+04	2.0E+03	4.1
	3.3E+03	2.2E+02	6.7		3.3E+04	1.3E+03	3.9
	7.9E+02	8.5E+01	10.8		2.2E+03	1.6E+01	0.7
	3.3E+04	4.8E+02	1.5		1.1E+05	6.0E+03	5.5
2.3E+04	1.5E+02	0.7	2.4E+04		2.4E+03	10.0	
3.3E+05	3.0E+04	9.1	1.1E+05	2.1E+04	19.1		

### 3-3-2 TC, FCの相関

TC, FCの相関については、今回の調査が6月, 7月の2カ月間と短期間に実施したものであり, さらに長期間にわたって, TC, FCにおよぼす外的要因をも含めて検討を加えなければならないが, 今回調査した72検体から検出されたTC (MPN/100 ml), FC (個/100 ml) の間に全体として高い相関が認められた( $r=0.83$  n, 72) (図1)。

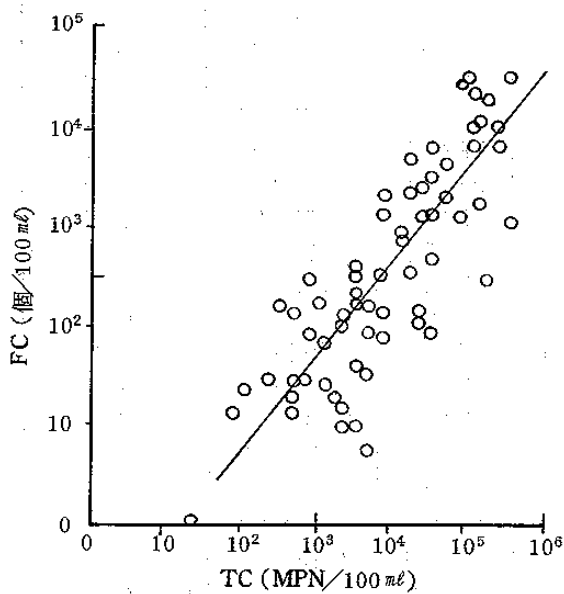


図1 TC, FCの相関

また, TC, FCの相関は生活排水の影響の大きい河川ほど高い傾向が認められ, 河川類型別にみるとA類型河川では低く, E類型河川では高い相関が認められた。また, ふん便汚染の影響がないと思われる清澄な河川ではTC, FCの相関は認められなかった。

このことから, 市内河川の水質は全体として類似しており, 都市河川としての特徴を有しているものと考えられる。

以上のことから, FCは河川のふん便汚染状況を把握する指標として適しており, また, 河川水中のTC, FCの比を求めることにより相対的にふん便汚

染状況を知ることができるものと思われる。

### 4 結 語

- ① MFC法により河川水中のふん便性大腸菌群を簡便にかつ精度よく検出することができた。
- ② フィルター上に発生したコロニーのうち典型的なコロニーはすべてE. coliであり, これ以外のコロニーと肉眼で識別することができた。
- ③ フィルター上に発生したコロニーは主にE. coli, K. pneumoniae, E. cloacae, C. freundiiであった。
- ④ 市内河川水中のTC中に占めるFCの割合は0%~48% (平均7.6%)であり清澄な河川では0%~0.3%であった。
- ⑤ 今回の調査結果では全体としてTC, FC間に高い相関が認められたが, ふん便汚染の程度によって異り清澄な河川では相関が認められなかった。以上のことから, 河川のふん便汚染の指標としてMFC法によるFCの検出は有効であるものと思われる。

### 5 文 献

- 1) 環境庁水質保全局: 水質環境基準検討会報告書, 1983
- 2) 上野英世: 大腸菌群の周辺, 用水と廃水, 19, P 555 ~ 565, 1977
- 3) 村瀬秀也, 加藤邦夫, 下川洪平: 河川水中の大腸菌群数について, 用水と廃水, 19, P 567 ~ 574, 1977
- 4) 近藤平一郎他: 大腸菌群に関する調査研究 (その4), 徳島県公害センター年報, No 4 P 94 ~ 97, 1978
- 5) 高橋克雄他: 大腸菌群に関する調査, 青森県公害センター所報No 4, P 81 ~ 94, 1979
- 6) 尾藤朋子, 北原節子: MF法によるふん便汚染指標細菌の測定に関する検討, 用水と廃水, 26, P 736 ~ 741, 1984