

函館高専 正員
電々公社

芦立 俊厚・木田 清美
石沢 健吾

1. はじめに

配水管網末端での細菌の aftergrowth やビル・団地等の受水槽での汚染事故による細菌の増殖は河川水や井戸水を通じての水系伝染病を駆逐した近代水道の新たな問題である。さらに加えて、原水の有機汚染の進行、THM発生制御のためとられる塩素注入量の削減、代替殺菌剤の使用等は浄水中における細菌増殖のポテンシャルを増大させるおそれがある。このような状況下では消化器不病原菌混入の可能性も一概に否定できないが、その場合は大腸菌群ないしは Fecal coliform を指標として対処し得るものとして当稿ではふれない。一方一般細菌と呼ばれてきた有機栄養細菌は我国の場合 1 ml 中 100 までその存在が認められているがその衛生学的意義は必ずしも明確でない。しかし前述した状況下で大量に増殖する可能性があるのはむしろこれら有機栄養細菌である。その大部分は非病原性といえてよいが、Aeromonas, Pseudomonas など一部の種に病原性を有するものの存在が報告されており、非病原性細菌の大量増殖とともに緊急の課題とする必要がある。当稿では飲料水の細菌に関する水質評価において現行定法の問題点を指摘してそれに代る新たな手法 (R2A-sp 法) を調査結果に基づいて報告する。さらに環境水の水質評価や水中での細菌の増殖・減衰過程の追跡への応用にも言及する。

2. 実験方法

水中の生菌数を求める目的から直接計数法によらず寒天培養法によった。比較検討した培地の組成を表-1に示した。表中 SPC 培地は上水試験方法, Standard Methods 等に採用されている一般細菌用の培地であり, PGY 培地は淡水中の有機栄養細菌検出のため研発が開発したものである。¹⁾ また R2A 培地は配水管内での aftergrowth 追跡のため Reasoner が開発した培地である。²⁾ 各培地ごとに pour plate 法 (混和平板法, 以下 pp 法と略す) と spread plate 法 (表面塗抹法, 以下 sp 法と略す) を併用して結果を比較した。pp 法は予め試水の入ったシャーレに固状寸前の寒天培地を流し込み試水と十分混合させて培地を固め培養する方法であり, sp 法は予めシャーレに流し込み固めてある寒天培地の表面に試水をとり bent glass rod によって寒天表面に試水を均一に拡散させ培養する方法である。それぞれのシャーレを 28°C の孵卵器で所定の日数培養後 colony counter により細菌数を求めた。結果は CFU/ml (Colony forming units/ml) で示した。

検討した試料は水道水 (消費者の実験室 [L133], 研究室 [L218] の水道蛇口から得たもの), 浄水場原水, 河川水, 下水処理場流入水, 同処理水等である。各試料は上記の細菌試験の際に, 水温・pH・電導度・濁度・紫外線吸収等を併せて測定した。

3. 実験結果と考察

試料中の細菌が各々の培地で計数可能な colony を形成するために必要な培養日数を求めるため, 培養後適当な間隔で計数した結果の一例を図-1, 2, 3に示した。水道水の場合 (図-1) 2日以降徐々に colony が出現しはじめ7日頃にその速度が鈍化して10日目に大部分の colony の出現が終了する。一方下水の場合 (図-2) は2日目で大部分の colony が出現し以降の増加はわずかで

表-1 各種培地の組成

R2A		PGY		SPC	
Yeast extract	0.5g	Yeast extract	1.0g	Tryptone	5.0g
Proteose		Peptone	2.0g	peptone	2.5g
peptone #3	0.5g	Dextrose	0.5g	Yeast extract	1.0g
Casamino acids	0.5g	Agar	15.0g	Dextrose	1.0g
Dextrose	0.5g			Agar	15.0g
Sol. starch	0.5g				
Sodium pyruvate	0.3g				
K ₂ HPO ₄	0.3g				
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.05g				
Agar	15.0g				
pH	7.2	pH	7.0	pH	7.0

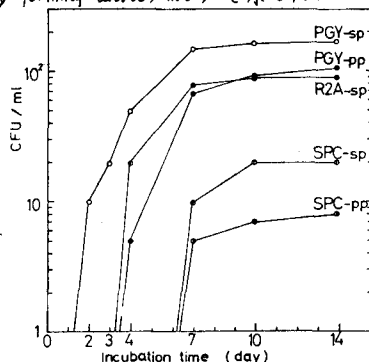
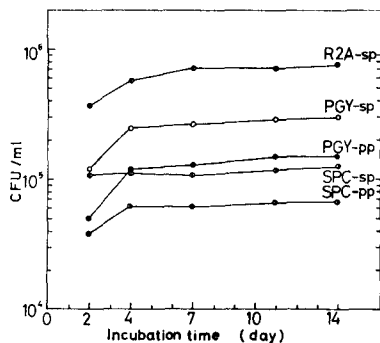
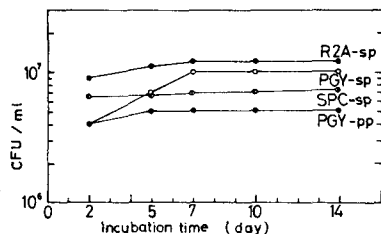


図-1 各種培養法の colony 形成経緯 (水道水) [L133]

ある。河川水の場合(図3)前二者の中間の結果となった。以上の結果は各試料における有機物濃度の履歴が培地上での細菌の増殖に大きな影響を与えていることを示唆している。また水道水の場合塩素の添加によって細菌にstressが加



っている点も見逃せない。いずれにしても5~7日(水道水の場合7~10日)の培養日数が試料水中の細菌の完全な把握のために必要である。

各培地についてsp法とpp法の比較を図4に示した。一部の例外を除きsp法はpp法を大きく上回っている。これは水中細菌の大部分を占める好気性細菌にとって寒天培地表面で増殖することのできるsp法の方が酸素摂取上好ましいためと考えられる。色素産生率もsp法の方が優れていた。

図3 各種培養法のcolony形成総数(豊田川)

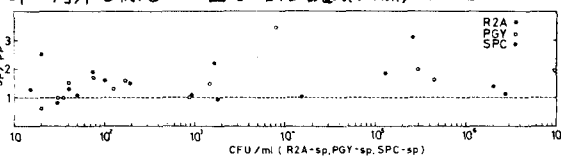


図4 各種培地のsp:pp比

表2は濃者の実験室[L133]の水道蛇口(本校は市

の水道を受水槽に受けた後ポンプ圧送によって各室に給水している)から表中に記載した流量で水を流し続け、経時的に水質と各種培地による細菌数の変化を追跡したものである。表から明らかにように0~85分にかけて標準法による細菌数は0であったが、PGY・R2A培地によると当初100~200 CFU/mlの細菌が水を流し続ける過程で徐々に減少していく様子が示されている。表2の右側に2日間水道水も使用しなかった研究室の蛇口から

表2 水道水の細菌試験結果の一例

Items	0	1	3	L133 - Time (min)					85	L218
Stand.meth. (CFU/ml)	0	0	-	5	10	20	40	80	0	11
SPC-pp	12	3	-	2	-	4	-	1	0	660
SPC-sp	15	0	10	0	0	0	0	5	0	690
PGY-pp	99	43	-	35	-	34	-	26	29	820
PGY-sp	125	75	55	35	40	20	55	40	30	880
R2A-pp	123	62	-	40	-	46	-	31	37	1900
R2A-sp	190	100	75	75	80	50	55	40	30	1800
Q (1/min)	+8.0	+8.0	+8.0	+8.0	+8.0	+8.0	+8.0	+26.3	-	-
Tw (°C)	6.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.4	5.4	5.4	5.3	8.5
pH	6.7	6.7	6.8	6.8	6.9	7.0	7.1	7.1	7.1	7.2
E.C. (μmho/cm)	103	102	98.3	103	103	101	97.9	99.4	102	104
f.r.Cl ₂ (ppm)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	<0.1

採水した試料についての結果を示した。試水は薄い黄土色で、残留塩素も0.1ppm以下であったが標準法では一般細菌は11 CFU/mlに過ぎなかった。ところがR2A培地では、2000 CFU/mlに迫る細菌が検出された。以上の結果は標準法によって求めた一般細菌という指標が水中の生菌数を全くないしは一部しか反映していないことを示している。表2の細菌数には必ずしも高いとはいえないが、それを大幅に上回る爆発的な増殖が起きた時、標準法は致命的欠陥を露呈することが予見される。

R2A-sp法は総合的にみて飲料水に最適と考えられるが河川水・下水中の細菌の検出率も優れているので、汚水や環境水における細菌の挙動の追跡にも通じていると考えられる。図5-6はその一例を示したものである。図中の記号はそれぞれM-O(汚染の著しい河川(松倉川)の水をそのまま)、M-A(M-Oを高圧蒸気滅菌し河川(もみぢ)に接種)、S-O(上記河川水に対して水(1)割合の混合液を接種)、S-A(S-Oを高圧蒸気滅菌し少量の水に接種)である。これらをそれぞれフラスコにヒリ空気を送って細菌数の経時変化を追跡した。典型的な細菌の増殖曲線が得られたのははじめ数々の知見を得た。

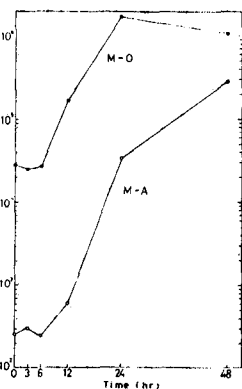


図5 河川水中での細菌数変化

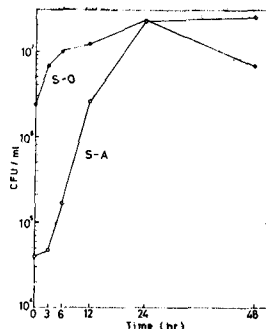


図6 河川下水水に投入した細菌数

1) 松倉川: バイオテック, 2, 389 (1971) 「Appl. #N7 Annual Meeting of ASM, Los Angeles, CA (1979)」
2) Reasoner, D.J.: A New Medium for the Enumeration and Subculture of Bacteria from Potable Water