

II-426

二次処理水の塩素消毒における消毒指標細菌とファージの不活化特性

建設省霞ヶ浦工事事務所 ○正員 諏訪 守
建設省 土木研究所 正員 佐藤 和明
建設省 土木研究所 正員 小越 真佐司

1. はじめに

下水処理水の再利用が各種の形態で行われるのに伴い、衛生学的安全性に関して十分な考慮を払う必要も出てきている。バクテリオファージはその構造、性質等の類似、測定の簡易、安全性により、ウイルス代替指標として有望視されている。しかし、二次処理水中や塩素滅菌放流水中などにおいては、重層寒天法による検出限界以下の濃度であるため、消毒指標細菌との関連性や、塩素による消毒耐性など明確な傾向の把握が困難であった。そこで、本報告では、ファージの測定法を重層寒天法から直接プラーク法¹⁾に改め、サンプル量を多くして二次処理水中、塩素滅菌放流水中のファージ量の検出限界を高めることによって、二次処理水中の消毒指標細菌とファージの塩素消毒耐性の関連性を明確に把握することを目的として行なった。

2. 実験方法

A 下水処理場（分流式）の二次処理水を採水し、ただちに実験室に持ち帰り実験用サンプルとした。滅菌三角フラスコにサンプル1000mlを入れ、次亜塩素酸ナトリウムを所定の塩素濃度になるよう添加する。15分間接触させた後ただちにオルトリジン法により残留塩素を測定すると共に、亜硫酸ナトリウムによって塩素の中和を行なった。

各細菌群については、大腸菌群（M-FC培地、37℃）、ふん便性大腸菌群（M-FC培地、44.5℃）、腸球菌群（KF培地、37℃）を平板培養法又は、メンブランフィルター法により測定、さらに、*E. coli* K12（F⁺）株を宿主菌とする コリファージを直接プラーク法により測定した。ファージの測定に用いた培地組成を表-1に、直接プラーク法の操作手順を図-1に示した。培地1000ml中にCaCl₂を添加し、サンプル100ml、菌株1晩培養液を15mlをそれぞれ加えた後、ただちにシャーレ（230×80の角シャーレ）15枚に分注し、固化させ37℃で1晩培養を行ない、翌日培地中に形成されたプラークを計数する。水質分析項目は、水温、pH、電気伝導度、BOD、SS、NH₄-N、NO₂-N、NO_x-N、K-N、COD_{Cr}を測定した。

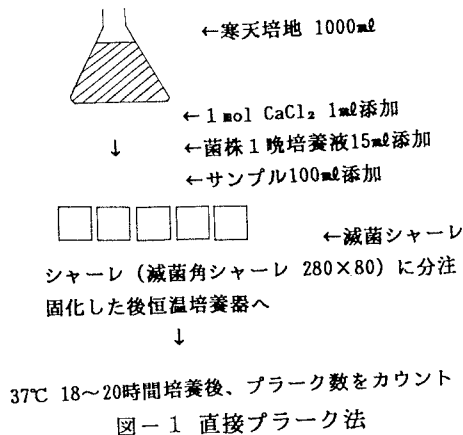


表-1 培地組成

トリプトン	1.0%
酵母エキス	0.5%
NaCl	0.5%
MgSO ₄ ・7H ₂ O	0.02%
MnSO ₄ ・4H ₂ O	0.005%
ブドウ糖	0.15%
寒天	1.1%
pH	7.0±0.2
CaCl ₂ を添加したものを使用	

表-2 定量結果

採水日	ファージ	大腸菌群	ふん便性大腸菌群	腸球菌群
8/15	45	24×10 ²	51×10 ¹	—
9/12	40	29×10 ³	13×10 ²	27×10 ²
9/19	37	10×10 ³	48×10 ²	12×10 ²
11/15	199	12×10 ³	65×10 ²	45×10 ²

ファージ数はPFU/100ml

細菌数は個/ml、11/15は、ピーク流量時のデータ

3. 実験結果

3-1 直接プラーク法による二次処理水中のファージの定量結果

二次処理水中のファージの定量結果を表-2に示す。*E. coli* K12 (F⁺)株を用いた定量結果は40PFU/100ml程度、ピーク流量時には約200PFU/100mlであり比較的多数のファージが検出された。少量の検水を用いて測定した結果でないため正確であり、二次処理水中のファージの定量に利用できると考えられる。

3-2 二次処理水中の消毒指標細菌及びファージの塩素耐性実験結果

実験結果を図-2に示す。各々の塩素添加濃度は1~6 mg/lの範囲とし、残留塩素濃度は約0.1~1.0 mg/lとなった。なお水質分析結果を表-3に示す。大腸菌群、ふん便性大腸菌群とも残留塩素濃度0.3mg/l（接触時間15分）で0.01%程度の生存率となっている。それに対し、腸球菌群数をそれと同程度の生存率にするためには約0.6mg/lの残留塩素濃度が必要であり、大腸菌群などよりも塩素耐性があることがうかがえる。ファージについては、残留塩素濃度1.0mg/lで約20%の生存率となっており、消毒指標細菌よりも塩素耐性の高いことがわかる。

4. まとめ

以上の実験結果をまとめると次のようになる。

(1) 直接プラーク法により、二次処理水中のコリファージを定量した結果、約40PFU/100ml、ピーク流量時には約200PFU/100mlの検出量であった。

(2) 大量の検水からの定量結果であるため、正確であり、二次処理水中のコリファージの定量に利用できると考えられる。

(3) 二次処理水中の消毒指標微生物の塩素耐性実験から、それらの明確な消毒耐性を把握することができた。不活化されにくいものとしてコリファージ、腸球菌群、大腸菌群、ふん便性大腸菌群の順であった。

今後の課題としては、ウイルス代替指標として有望視されているファージとウイルスとの詳細な消毒耐性の関連把握が考えられる。そのことから二次処理水中、塩素滅菌放流水中のファージの正確な定量法の有効な活用により、処理水を再利用する上で衛生的な安全性をより高めることができると思われる。

最後に、*E. coli* K12(F⁺)株を分与していただいた東海大学医学部古瀬浩介博士に謝意を表します。

<参考文献>

- 1) W. O. K. Grabow, P. Coubraugh, " Practical Direct Plaque Assay for Coliphages in 100ml Samples of Drinking Water " Applied and Environmental Microbiology, Vol.52, No.3 1986.
- 2) 諏訪 守ら、「下水処理水の消毒指標微生物の検索」土木学会第44回年次学術講演会講演集、1989.

水温(℃)	26.7~ 27.3
pH	6.71~ 7.01
電導度(ms/cm)	0.421~ 0.545
SS(mg/l)	5 ~ 6
BOD(mg/l)	2.8~ 3.8
COD(mg/l)	12.9~18.2
NH ₄ -N(mg/l)	6.4~11.6
K-N(mg/l)	7.0~12.4

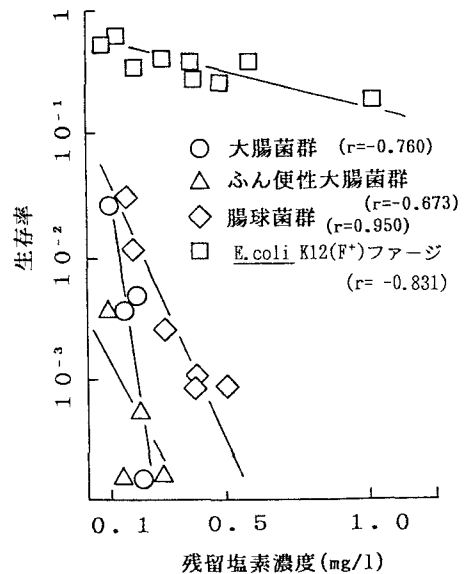


図-2 塩素耐性実験結果