

(Ⅱ -70) 大腸菌群の土壌への吸着

木更津高専 正会員 高石 斌夫
木更津高専 正会員 高橋 克夫

1. はじめに

現在、生活を取り巻く水環境には厳しいものがある。即ち、河川水を上水道水源にまた一旦使われた水の再利用等を行ななければならない状況におかれている。そのようなことから環境基準、排水基準および飲料水の水質基準にあっては、大腸菌群等の病原性指標細菌の取扱いは一層重要なものとなっている。

本研究では、大腸菌群の浮遊物質、実河川の底泥および関東ローム土壌における吸着および分離を調査したものである。

2. 実験方法

2-1 関東ローム土壌への大腸菌の吸着・分離実験 300ml 容共栓付三角フラスコに、風乾状態の関東ローム土壌を0.5g秤量し、これに蒸留水を200ml加え、水溶液中の土壌濃度を2500mg/Lとした。次いで大腸菌 (*E. coli* B、約 3.9×10^8 CFU/ml、平板分離培養したコロニー 2~3 個をポリペプトンを主成分とした液体培地(10ml)に懸濁させて、37℃で24時間培養したものである) を 0.2ml 添加し、実験開始後 0.5分、30分、60分経過時に分析試料を採取するとともに、遠心分離を行う試料については遠沈管に直接10ml採取した。またフラスコ内溶液は、マグネチックスターラーで攪拌した。分析試料は、三角フラスコ内の溶液を直接採取(遠心分離操作を加えていない、混合試料)したものと 3000rpm、3分間遠心分離機にかけた上澄水の2通りとした。また、遠心分離した試料についてはミキサーで再混合して、再度分析に供した。これとは別に関東ローム土壌の入らない三角フラスコを1個用意し、これを対照実験に供した。また、いずれの三角フラスコについても20℃の恒温室内にセットした。

2-2 河川底泥中の大腸菌群の測定 木更津市を流れる小都市河川(流域面積約3409.8ha)の河口から約1km上流の河川底泥を小型シャベルで表層部分を約5cmの厚さで、約100mlかきとり試料瓶に採取した。採取した試料は直ちに実験室に持ち帰り、湿泥状態のまま均一になるようにガラス棒で攪拌した。

分析試料は、ここからその1mlを分取し、無菌リン酸塩緩衝希釈水で10倍に希釈混合し、これを直接採取(底泥の混ざった試料)と遠心分離操作を加えた上澄水試料の2通りとした。また、泥地点での河川水中の大腸菌群濃度も合わせて測定した。

2-3 大腸菌群の測定方法 大腸菌群の測定は、デソキシコール酸塩寒天培地(ニッスイ製薬)による平板培養法によった。

3. 実験結果および考察

3-1 関東ロームへの大腸菌 (*E. coli* B) の吸着 図-1に関東ロームへの大腸菌の吸着結果を示す。

横軸は採水時間(分)を、縦軸は大腸菌 (*E. coli* B) の濃度(CFU/ml)を示している。各採水時間における混合液は $10^3 \sim 10^4$ CFU/mlのオーダーあり、上澄水は $10^1 \sim 10^2$ CFU/mlのオーダーであって両者の差は 10^2 のオーダーであった。

また、各混合液、上澄水とも採水時間の範囲内では 10^1 CFU/ml程度の差異であった。

0.5分時の対照値は 1.7×10^5 CFU/mlであり、遠心分離上澄水は 9.9×10^2 CFU/mlであることから、0.5分頃までに 10^3 オーダーの大腸菌が吸着されたものとみなせる。このことから、関東ロームへの大腸菌 (*E. coli* B) の吸着は数分間程度

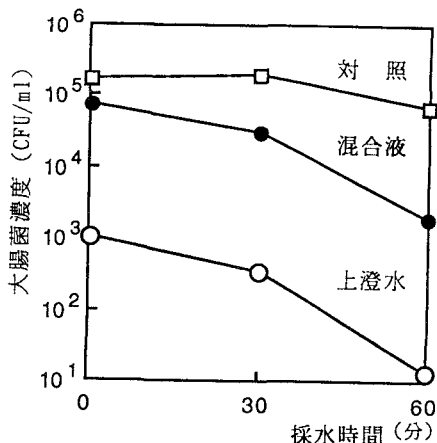


図-1 関東ロームへの大腸菌の吸着

(遠心分離時間は 3 分間であり、この間も吸着するものと考えられる)で行われると思われる。また、30 分時から 60 分へと時間の経過により大腸菌濃度が減少しているのは、①死滅によるものか②関東ローム土が存在することにより、生存しているものの何等かの原因で検出されなかったことが考えられる。

土壌を含んだ試料であっても、測定時に希釈操作が加わると土壌に吸着された大腸菌は分散され、十分検出されることが確認された。

つぎに、図-2 に 0.5 分および 30 分における再混合液とその上澄水の 1 回目および 2 回目の測定結果を示した。

この図から 0.5 分における大腸菌の濃度は、混合液および上澄水とも再混合操作、遠心分離操作の前のオーダーに回復することが確認された。また、30 分における結果からは、特に 2 回目の上澄水の大腸菌濃度は低かった。しかし、大腸菌を吸着した土壌を含んだ試料の再現性がほぼ確認された。

3-2 河川底泥中の大腸菌群濃度と吸着 図-3 に河川底泥中からの大腸菌群の分離と吸着の様子を示す。一回目の混合液の濃度は 9.7×10^6 CFU/ml であり、一回目の遠心分離上澄水は 1.8×10^4 CFU/ml であった。

また、このときの底泥 1g あたりの吸着大腸菌群量は 2.4×10^8 CFU/乾土 g であり、再吸着の場合では 1.4×10^6 CFU/乾土 g であった。このことから、今回測定した小都市河川底泥中の大腸菌群の濃度はかなり高いことがわかった。

また、遠心分離により混合液中の大腸菌群の 99.8 % が底泥に吸着しているものと考えられる。更にこの試料について遠心分離後再度混合した 2 回目の測定結果から混合液の大腸菌群濃度は 9.1×10^5 CFU/ml になり、底泥に吸着した大腸菌群の相当量が測定されていると思われる。しかし、2 回目における遠心分離操作後の大腸菌群の濃度は 7.9×10^4 CFU/ml となって、オーダー的には一致する結果であった。

この様なことから、再混合操作により、混合液および遠心分離操作後の上澄水とも再混合前の大腸菌群濃度の値に近いところまで回復することが確認された。

このことから、大腸菌群を吸着した底泥(土壌も含めて)を含んだ試料の再現性が確認された。また、大腸菌群は河川底泥等に吸着するものの、底泥が巻上げ状態におかれた場合には、底泥に吸着されている大腸菌群が高濃度で検出される可能性がある。

本実験条件での底泥への吸着量は、1 回目の混合、分離過程で 7.4×10^8 CFU/乾土 g の、更に 2 回目の混合、分離過程では 6.4×10^7 CFU/乾土 g であった。

4. まとめ

- (1) 関東ロームへの大腸菌(*E. coli* B)の吸着は数分間程度で行われ、大腸菌濃度は経過時間とともに低下した。
- (2) 大腸菌を吸着した土壌を含んだ試料についての測定結果に、再現性が認められた。
- (3) 河川底泥 1g 当り 2.4×10^8 CFU/乾土 g の吸着量が測定され、巻上げ時には高濃度が検出されることになる。

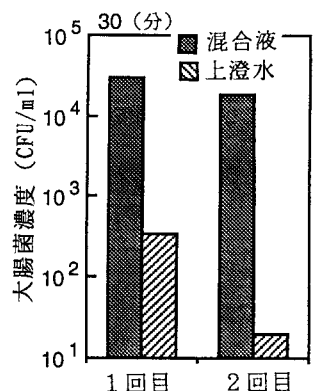
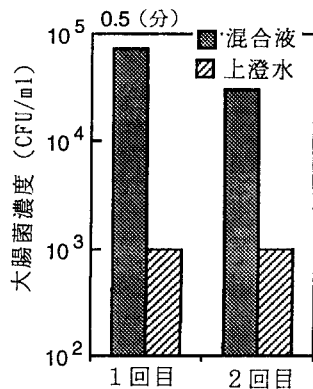


図-2 関東ロームへの大腸菌の分離と吸着

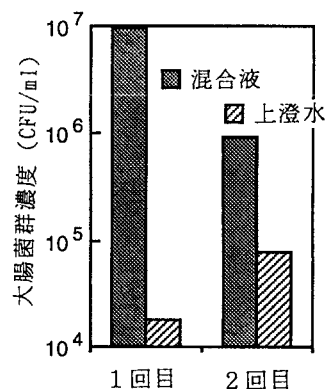


図-3 河川底泥中の大腸菌群の分離と吸着