

コリファージ数の統計的分布特性

岩手大学大学院 学生員 宇川 一行 阿部 武臣

岩手大学工学部 正 員 相沢 治郎 海田 輝之 大村 達夫

1. はじめに

今日、下水処理水の再利用が考えられるようになってきており、これが重要な関心となっている。そこで、再利用からみて処理水の安全性を示す指標として、細菌ウイルスであるコリファージが注目されている。多々あるウイルスの中にあつて、大腸菌ファージは取り扱いが容易であり、研究者に対する危険性がないこともあつて、病原ウイルスに対する指標として有望である。

しかし、大腸菌ファージは、糞便には含まれていないが下水中には存在していると言うようにまだその挙動には不明なところが多く、水環境中におけるコリファージ数の測定値の評価はまだ十分されていないのが現状である。

これらのことから、本研究では大腸菌ファージに注目し、種々な水環境中においてコリファージの測定値がどのような統計的分布特性を示すのかを実験的に調べた。

2. 実験材料および方法

試料水は、岩手県都南浄化センターより採水した生下水、一次処理水、二次処理水を用いた。また、宿主菌株としてE. Coli B（岩手大学農学部 若尾先生より提供いただいた。）を使用した。

定量方法は、あらかじめ保存斜面寒天培地（T S A）で継代培養した宿主菌株E. Coli Bを一白金耳かきとり、液体培地（T S B）に接種し、37℃で一昼夜振とう培養して 1×10^8 個/ml になるように調整し、これを host sell とした。host sell は -20℃ で保存し、生存力を弱めないために 6 週間以上のストックを避けた。この host sell を宿主菌株の培養液として使用した。その培養液と試料水をシャーレにそれぞれ 1ml ずつ入れてよく混ぜ合わせ数分間待ち、その上に 45～50℃ 程度に調節した寒天培地（M T S A；表-1）をかぶせて混ぜ合わせたものを 100 枚作り、37℃ で 24 ± 1 時間培養し、その寒天面上に出現したプラークを測定した。

コリファージ数の測定は、生下水、一次処理水、二次処理水についてそれぞれ 3 回ずつ行った。また試料水は、生下水及び一次処理水は 10 倍希釈とし二次処理水は無希釈で行った。

表-1 寒天培地（M T S A）

トリプトン	17.0 g	NH ₄ NO ₃	1.60 g
ソイトン	3.0 g	S r (NO ₃)	0.21 g
グルコース	2.5 g	K ₂ HPO ₄	2.50 g
N a C l	5.0 g	寒天	15.0 g

3. 実験結果及び考察

表-2 は、各試料水における測定値の頻度分布より得られた平均値、標準偏差、変動係数、歪度、尖度を示している。また、図-1～図-3 は各試料水における大腸菌ファージ数の頻度分布を示している。

標準偏差についてみると、生下水は 9.898pfu/ml、一次処理水は 7.442pfu/ml、二次処理水は 5.011pfu/ml となっている。また、変動係数についてそれぞれみると、生下水は 0.198、一次処理水は 0.233、二次処理水は 0.260 となっており、その値は徐々に大きくなっている。この標準偏差と変動係数を平均値と比較し検討してみると平均値が小さくなると標準偏差が小さくなり、変動係数は大きくなる。このことは、大腸菌ファージ数が少ないときには測定値にばらつきが大きく、その信頼性も低下することを示している。

また、これらの変動係数の値は、以前に著者らが行った実験により得られている大腸菌群数の値とほぼ同様の値となっている

次に歪度をみてみると、生水が0.636、一次処理水が0.186、二次処理水が0.288となっており、とくに生水で大きな値となった。したがって、生水のように浮遊性の物質や水質が悪い試料においては、正規分布ではなくて対数正規分布やポアソン分布など他の分布型を示すものと思われる。すなわち、種々の水環境において、大腸菌ファージの分布特性が必ずしも正規分布を示さないものと考えられる。また、この大腸菌ファージの歪度においても変動係数と同じように大腸菌群における結果とほぼ同様の結果になることがわかった。このことから、水環境中における大腸菌ファージの測定は、各試料水の水質や懸濁物質によって測定値にばらつきを生じさせるものと考えられる。

また、尖度をみてみると生水が3.986、一次処理水が3.226、二次処理水が2.841となっている。この尖度の値も、他の値と同様に大腸菌群における結果とほぼ同様な値となっている。

表-2 各試料水における各統計値

生水					
	平均値	標準偏差	変動係数	歪度	尖度
1月19日	53.86	10.330	0.192	0.221	2.811
1月26日	80.11	14.578	0.182	1.223	6.123
2月2日	43.62	4.785	0.219	0.464	3.024
平均	59.20	9.898	0.198	0.636	3.986

一次処理水					
	平均値	標準偏差	変動係数	歪度	尖度
1月19日	30.91	7.410	0.240	0.002	3.249
1月26日	35.60	7.913	0.222	0.166	3.582
2月2日	29.57	7.003	0.237	0.391	2.848
平均	32.03	7.442	0.233	0.186	3.226

二次処理水					
	平均値	標準偏差	変動係数	歪度	尖度
1月19日	22.53	4.700	0.209	0.024	2.430
1月26日	18.74	4.404	0.235	0.192	2.790
2月2日	17.60	5.928	0.337	0.649	3.302
平均	19.62	5.011	0.260	0.288	2.841

各試料水における各統計値の平均					
	平均値	標準偏差	変動係数	歪度	尖度
生水	59.20	9.898	0.198	0.636	3.986
一次処理水	32.03	7.442	0.233	0.186	3.226
二次処理水	19.62	5.011	0.260	0.288	2.841

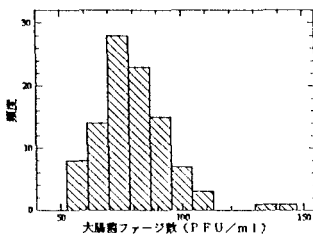


図-1 生水における大腸菌ファージ数の頻度分布

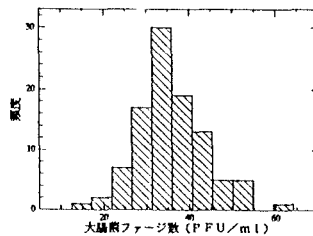


図-2 一次処理水における大腸菌ファージ数の頻度分布

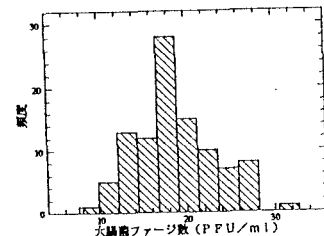


図-3 二次処理水における大腸菌ファージ数の頻度分布

4. まとめ

生水、一次処理水、二次処理水と下水処理過程においての水環境の変化によって、大腸菌ファージの統計的分布特性は変化し、必ずしも正規分布を示さないことがわかった。また、水環境中における信頼性も水質によって変化するものと考えられる。

したがって、水環境中における大腸菌ファージの測定は、大腸菌群の場合と同様にサンプリング誤差以外に懸濁物質や水質によって大きく変化すると考えられるため、懸濁物質の濃度変化による統計的分布特性を明らかにすることが必要であると考えられる。

参考文献

1. 大村 達夫ら；水環境中における指標細菌群数の統計的分布特性、環境工学研究論文集 第31巻、pp337~pp346
2. 高橋 善人；大腸菌ファージの試験方法に関する基礎研究、下水道協会誌、Vol131.No366 pp48~pp55
3. 根井外 喜男；微生物の保存法、東京大学出版会、pp3~pp69, pp107~pp113
4. 川喜田 愛郎ら；ウイルス、共立出版株式会社、pp1~pp72, pp182~pp210