

メンブランフィルター法による糞便性大腸菌群数の測定

木瀬 晴美*・和波 一夫・石井 裕一

(*非常勤研究員)

【要約】水浴場の水質基準項目である糞便性大腸菌群の測定法にはメンブランフィルターを用いる M-FC 法と HGMF 法が公定法として定められている。都区海域には水浴場はないが、参考までに海浜公園等の海水について、両方法で測定し結果を比較検討したところ、両者の間には強い相関性が認められた。しかしながら、検水中の菌数が少ない時は相関性が低かった。

【目的】メンブランフィルター法は取扱いが簡易で迅速に糞便性大腸菌群の菌数値が得られ、大量の検水を一度にろ過できるので汚染が低い試料の測定も可能である。ただし、糞便性大腸菌群とされる青いコロニーの色調に濃淡があり、明瞭に識別するのが困難な場合がある。また、菌数の多い検体の場合は、フィルター上に出現するコロニー数を望ましいとされる 10~30 個位になるよう、検水を希釈するのが難しい。特に、円形のフィルターを用いる M-FC 法はフィルター上のコロニー数が多すぎると、計測が困難であるばかりでなく、コロニーの色調が不明確となりやすい。一方、疎水性格子の四角いフィルターを用いる HGMF 法は 1600 のろ過区画があるので、コロニー数が 30 個以上の多数であっても計測でき、かつ区画は明確であるのでコロニーの数え方が容易である。ここでは海浜公園の海水を試料にして、公定法で定められている両方法の測定値を比較した。

【方法】2011 年度から 2012 年度に採水した試料(地点等は表 1)を M-FC 法と HGMF 法で比較した。

M-FC 法: ファンネル及びフィルターホルダーを用い、直径 47mm 孔径 0.45 μ m の界線入り滅菌済みメンブランフィルターで検水をろ過する。同フィルターを mFC 寒天培地(小型ペトリ皿)に密着させ、44.5°C \pm 0.2°C で 24 \pm 1 時間培養した。青色で光沢をもったコロニー形成単位(CFU)を糞便性大腸菌群と数える(写真 1)。

HGMF 法: プレフィルターの組み込まれたろ過装置(ISO-GRID フィルトレーションユニット)を使用し、孔径 0.45 μ m の疎水性格子付メンブランフィルターで検水をろ過する。同フィルターを mFC 寒天培地(ペトリ皿)に密着させ、44.5°C \pm 0.2°C で 24 \pm 1 時間培養し、青色で光沢をもったコロニーの含まれている区画を数え確率論的に最確数(MPN)を求める(写真 2)。

培地は M-FC 法と HGMF 法の両方法とも mFC 寒天培地(Difco 製)を用いた。培地にはアニリンブルーが含まれ、糞便性大腸菌群によって生成される酸がアニリンブルー色素を青色にする。この反応でコロニーを判定する。

【結果の概要】

(1) M-FC 法と HGMF 法の糞便性大腸菌群数測定値(n=179)の相関関係を図 1 に示す。決定係数 R^2 は 0.9609 と高い値を示し、両方法の間に強い相関性が認められた。

(2) 水浴場の水質判定基準を参考に、M-FC 法によるコロニー数 100 個/100ml で区切ってみると、M-FC 法と HGMF 法による測定値(n=122)の決定係数 R^2 は 0.9602 と両方法の間で高い相関性を示した(図 2)。

(3) 一方、M-FC 法によるコロニー数 100 個/100ml 以下では M-FC 法と HGMF 法による測定値(n=57)の決定係数 R^2 は、0.001 と極端に下がり、両方法の間に相関性は認められなかった(図 3)。

(4) 試料中の糞便性大腸菌群数が少ない時には両方法のバラツキが大きく、2012 年 11 月 13 日の葛西海浜公園西なぎさは M-FC 法では 47 個/100ml に対し HGMF 法では全く検出されなかった。他の葛西 3 地点でも M-FC 法のほうが HGMF 法よりも高い値が検出された。このような現象が葛西以外の地点でも数か所認められた。以上のことから水質 A(コロニー数 100 個/100ml 以下)や水質 AA(検出限界 2 個/100ml 未満)かどうかを判定する必要がある水浴場では、測定方法によって判定結果が異なるおそれがあると推測された。

表 1 調査地点と採水日

調査地点名	採水日	調査地点名	採水日
多摩川河口部	(2011年度)	お台場	(2011年度)
弁天橋	7月4日 11月7日	お台場ST.1(小学校前)	8月1日 10月11日
海老取川河口干潟	8月2日 12月6日	お台場ST.2(放流水)	8月8日 10月17日
大師橋左岸	9月12日 1月10日	お台場ST.3(中央)	8月15日 10月31日
都泉境	10月17日 2月6日		8月22日 11月14日
旧江戸川等	(2011年度)		8月29日 12月12日
旧江戸川河口(京葉線下右岸)	7月12日 11月14日		9月5日 1月23日
中川河口(葛西橋)	8月8日 12月12日		9月12日 1月30日
荒川河口 (東西線鉄橋下右岸)	9月5日 1月17日		
夢の島大橋	10月31日 2月13日		
葛西	(2012年度)	海浜	(2012年度)
葛西海浜公園西なぎさ(西側)	5月22日 11月13日	城南島海浜公園	5月7日 10月23日
葛西海浜公園西なぎさ(中央)	7月2日 12月4日	大井埠頭中央海浜公園	6月12日 11月12日
葛西海浜公園西なぎさ(東側)	8月7日 1月22日	お台場ST.1(小学校前)	7月10日 12月11日
葛西臨海公園三日月潟	9月10日 2月4日	お台場ST.2(公園中央部)	8月27日 1月29日
	10月15日		9月24日 2月5日

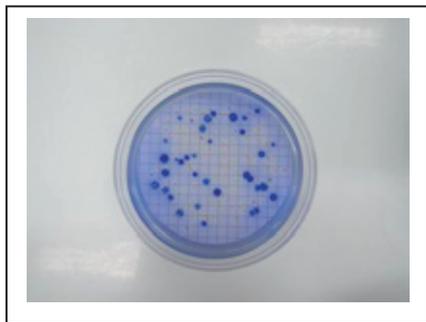


写真1 M-FC法

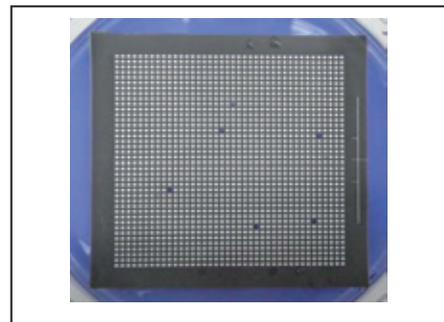


写真2 HGMF法

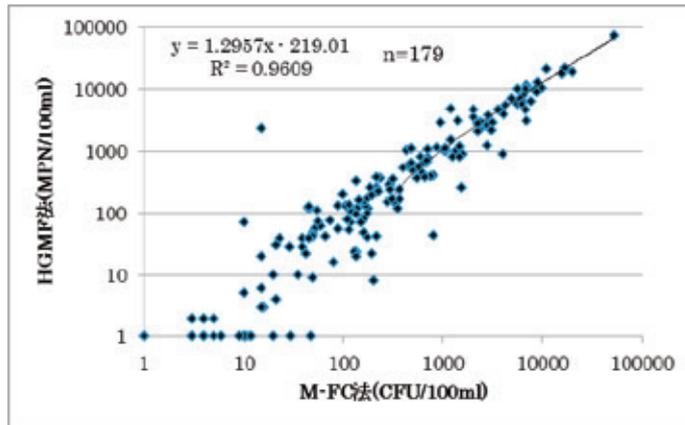


図1 糞便性大腸菌群数のM-FC法とHGMF法の相関関係

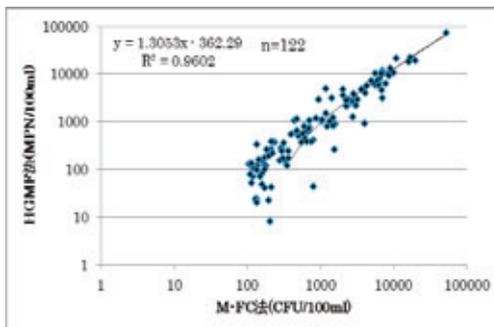


図2 M-FC法とHGMF法の相関関係

(M-FC法によるコロニー数 100 個/100ml 以上の場合)

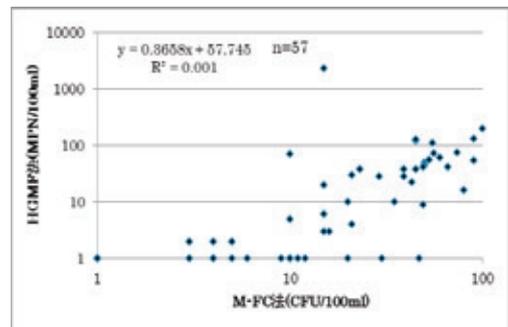


図3 M-FC法とHGMF法の相関関係

(M-FC法によるコロニー数 100 個/100ml 以下の場合)