

## 研究報告 大腸菌群数の定量方法の検討

岩崎誠二、地主昭博、松井孝悦、佐伯栄男

三重県内の公共用水域13地点で、大腸菌群数の構成細菌類の測定を行った。大腸菌群、ふん便性大腸菌群およびふん便性連鎖球菌を検出する培地を計8種使用し、年間6回の測定を行った。その結果、ふん便性大腸菌群およびふん便性連鎖球菌は大腸菌群の1/10～1/100であり、全般に季節間の変動は顕著に現れなかった。また、ふん便性大腸菌群およびふん便性連鎖球菌の比率を利用し、ふん便による汚染の発生源の推定を試みた。その結果、汚濁の進行している河川ではヒト由来、汚濁の度合いが小さい河川ではヒト以外の動物由来という傾向が見られた。

### 1. はじめに

公共用水域の常時監視（以下、常時監視という）で、大腸菌群数の測定にはBGLB培地を使用した最確数法（BGLB法）が採用されている。

大腸菌群とは「乳糖を分解して酸とガスを産生する無孢子の好気性または通性嫌気性グラム陰性桿菌の総称」である。しかしながら本定義に適合する細菌は、ふん便の他、自然界に幅広く存在する。BGLB法は上記で定義される細菌を検出することから、本法は病原菌等による汚染の指標としては適切でないという点が従来から指摘されている<sup>1-3)</sup>。

我々は、前報<sup>4)</sup>で三重県内の公共用水域の常時監視結果を使用して、大腸菌群数の経年変動を調査したところ、全般的な傾向として年間平均値は横バイまたは漸増であった。また、個々の値では水温の高温期に増加、低温期に減少するという1年を周期とした変動が確認された。この結果は現在の測定手法が天然に由来する大腸菌群を定量していることを示唆するものである。

しかしながら自然界における細菌の生態はきわめて複雑である。その細菌数は、細菌の種類、場所、時期等多数の要因で変動するものと考えられる。

そこで本研究ではまず県内の河川で、年間を通して大腸菌群、ふん便性大腸菌及びふん便性連鎖球菌の定量を行った。そしてそれらの関連性を比

較・検討して、公共用水域における大腸菌群等の汚染由来の把握を試みた。

### 2. 調査方法

#### 2-1. 調査地点及び調査時期

調査は県内の13地点の河川を対象に行った。調査地点、および調査日等を表1に示した。今井橋以下10地点は年間6回、芝床橋以下3地点では年間2回実施した。

#### 2-2. 調査項目

細菌類の検査は表2のとおり8種類実施した。大腸菌群数としてBGLB法等3種（大腸菌群G）、ふん便性大腸菌としてm-FC等3種（ふん便性大腸菌G）、ふん便性連鎖球菌（ふん便性連鎖球菌G）としてAC等2種実施した。細菌の項目の数値は常用対数に変換した。

また、一般の水質に関連する項目として、水温、pH、BOD等10項目を実施した。

### 3. 結果および考察

#### 3-1. 各種の検出法による細菌数の比較

大腸菌群Gの検出法として、本調査ではBGLB、LBBG、ONPGの3種類を使用した。LBBG法では、まずLB培地で増菌を行った後、BGLBに殖種、培養してガスの発生を検出する。増菌を行う分、直接BGLBに殖種する場合と比較して広く検出すると考

表1 調査地点および調査時期

河川名	地点名	類型	調査日 (1998.5~1999.2)					
			春季	夏季1	夏季2	秋季	冬期1	冬期2
志登茂川	今井橋	C	5/25	7/6	8/3	11/9	12/7	2/1
安濃川	御山荘橋	A	"	"	"	"	"	"
雲出川	雲出橋	A	"	"	"	"	"	"
坂内川	中部大橋	A	"	"	"	"	"	"
	荒木橋	B	"	"	"	"	"	"
外城田川	大野橋	B	6/1	7/13	8/10	11/16	12/14	2/15
	野依橋	C	"	"	"	"	"	"
宮川	岩出	A	"	"	"	"	"	"
一之瀬川	飛瀬浦橋	AA	"	"	"	"	"	"
宇治川	宇治橋	AA	"	"	"	"	"	"
久米川	芝床橋	B	-	7/7	-	-	-	2/16
朝明川	朝明橋	A	-	7/8	-	-	-	2/18
熊野川	四滝	AA	-	7/15	-	-	-	2/3

表2 調査項目および試験法

調査項目等	本報での略号	試験方法
大腸菌群		
BGLB培地法	BGLB	上水試験法
LB-BGLB培地法	LBBG	"
特定酵素基質培地法 (黄色発色)	ONPG	"
ふん便性大腸菌		
特定酵素基質培地法 (紫外線による蛍光)	MUG	上水試験法
EC培地法	EC	"
m-FC培地法	m-FC	"
ふん便性連鎖球菌		
AC培地法	AC	上水試験法
m-インテロコッカス培地法	m-EN	"
その他水質項目等		
気温	気温	JIS K 0102
水温	水温	"
透視度	透視度	"
水素イオン濃度	pH	"
生物化学的酸素要求量	BOD	"
浮遊物質量	SS	"
全窒素	T-N	"
全りん	T-P	"
塩素イオン濃度	Cl	"
水位	水位	"

えられる。またONPG法は、大腸菌群の定義にある乳糖分解酵素を指標として検出している。しかし

ながら自然界には、ガスを発生せずに乳糖分解酵素を生成する細菌も存在する。それゆえONPG法は、LBBG法よりさらに広く検出することが予想される。本調査の大腸菌群Gの検出結果でも、BGLBと比較して、LBBG、ONPGの値は全般により高目であった。平均値で見ればおおむね BGLB < LBBG < ONPG であり、従来の報告<sup>5)</sup>と同様の傾向であった。

MUGは -グルクロニダーゼという酵素の活性を指標として、大腸菌群の中の Escherichia coliを検出している。また、ECおよびm-FCは大腸菌群の中でも主としてふん便に特異性を持つ細菌類を検出する。これらは培養の温度で糞便性大腸菌の生育に特異性を持たせているので、Escherichia coli 以外の数種の腸内細菌も同時に検出される。以上の理由により、表3のとおり、おおむね MUG < m-FC < ECとなったものと推察される。

ふん便性連鎖球菌を検出する AC及び m-ENも BGLB等大腸菌群と比較して1~2桁低い値であった。ふん便性連鎖球菌の検出には2種類の検査方法を使用した。それらの値は全般に AC < m-ENであった。

### 3-2. ふん便性大腸菌群数と大腸菌群数の比率

3-1でも述べたとおり、m-FC培地は大腸菌群の中でも主としてふん便に特異性を持つ細菌類を検出することができる。BGLB法と比較しても、検出される細菌の種類が、おおむねふん便由来のものに限定されていることから、m-FC培地で検出さ

表3 全地点、全項目の最大、最小及び平均値

地点名及び類型	大腸菌群G			ふん便性大腸菌G			ふん便性連鎖球菌G			気温	水温	pH	BOD	SS	T-N	T-P	Cl
	BGLB	LBBG	ONPG	MUG	LBEC	m-FC	AC	m-EN									
今井橋	最小	2300	7900	13000	78	330	140	18	110	7.5	5.5	7.1	4.7	4	3.8	0.38	10
	最大	110000	33000	54000	13000	17000	11000	4900	4000	35.2	30.5	9.4	14	15	8.1	1.1	520
	C 平均	25000	24000	30000	3900	7000	4400	1700	1500	21.0	19.0	7.9	7.3	9	5.1	0.61	100
御山荘橋	最小	2200	2100	4600	93	220	35	130	200	8.0	7.0	7.1	1.2	1	1.0	0.025	10
	最大	54000	33000	35000	700	3300	1900	790	1000	34.0	28.0	7.3	2.6	9	1.7	0.089	20
	A 平均	19000	16000	18000	270	1400	650	410	630	21.0	18.0	7.2	1.8	4	1.5	0.050	14
雲出橋	最小	130	1300	700	20	33	32	<1.8	6	7.5	5.8	7.2	0.9	1	0.9	0.016	9
	最大	7900	7000	17000	790	1300	640	490	790	34.0	27.2	7.4	1.9	8	1.4	0.050	17
	A 平均	4200	4600	7200	220	450	240	110	260	21.0	17.0	7.3	1.4	3	1.2	0.034	12
中部大橋	最小	1300	4900	4900	200	330	110	110	29	6.6	6.5	7.6	<0.5	<1	0.6	0.010	8
	最大	43000	130000	33000	780	1300	700	4900	5500	30.2	24.2	7.8	1.2	10	1.0	0.020	10
	A 平均	16000	40000	21000	400	820	470	1300	1400	20.0	15.9	7.6	0.7	3	0.8	0.017	9
荒木橋	最小	4900	17000	7900	<180	330	250	180	73	8.8	8.3	7.3	1.0	1	1.0	0.042	10
	最大	49000	49000	110000	2400	2400	3200	2200	2700	35.5	28.5	8.0	1.8	4	1.5	0.082	14
	B 平均	20000	31000	53000	1100	1600	1100	570	1100	22.1	18.5	7.6	1.5	2	1.2	0.059	11
大野橋	最小	1400	1700	13000	130	130	370	23	83	9.5	6.0	7.2	1.5	<1	0.9	0.14	10
	最大	33000	49000	35000	13000	13000	10000	340	920	31.0	25.5	8.5	3.4	4	4.0	0.65	17
	B 平均	13000	16000	23000	2700	2800	2700	180	470	22.1	17.3	7.8	2.1	1	2.2	0.29	14
野依橋	最小	1700	13000	13000	49	130	1900	70	160	6.0	5.0	6.9	1.5	1	1.6	0.11	11
	最大	170000	110000	240000	1100	2200	13000	790	2100	26.2	25.0	7.3	3.6	2	3.9	0.40	18
	C 平均	45000	45000	100000	550	1100	5200	400	810	18.3	16.3	7.1	2.2	11	2.3	0.19	14
岩出	最小	33	49	130	<1.8	2	3	<1.8	1.5	8.0	8.5	7.3	<0.5	<1	0.50	0.006	6
	最大	1700	4900	7900	49	78	96	20	88	29.9	24.9	7.6	1.2	2	0.93	0.083	9
	A 平均	720	1300	2600	16	25	26	6.0	23.6	20.9	17.6	7.4	0.6	1	0.68	0.025	8
飛瀬浦橋	最小	220	170	330	1.8	1.8	24	1.8	2.5	9.0	9.2	7.2	<0.5	<1	0.20	0.007	6
	最大	2200	2200	3300	170	140	220	46	200	30.2	24.8	7.7	<0.5	1	0.40	0.073	9
	AA 平均	860	1100	1400	34	47	63	20	59	21.6	17.3	7.5	<0.5	<1	0.31	0.019	8
宇治橋	最小	33	79	330	17	22	21	4.5	6.5	6.8	5.2	7.4	<0.5	<1	0.17	0.003	8
	最大	5400	4900	7900	220	170	200	79	190	30.0	24.2	8.0	0.6	39	0.67	0.041	11
	AA 平均	2400	1700	2900	66	84	82	29	87	20.7	15.4	7.7	0.5	7.0	0.37	0.013	9
芝床橋	1回目	790	2200	4900	6.8	13	46	22	欠測	35.0	31.0	9.7	2.6	2	0.93	0.12	12
	B 2回目	1700	35000	4900	110	490	230	130	160	11.5	8.0	8.4	3.1	1	2.2	0.32	13
朝明橋	1回目	240000	540000	220000	7900	23000	32000	840	欠測	29.3	27.4	7.5	8.8	3	1.9	0.30	23
	A 2回目	13000	17000	22000	9400	2400	5600	17000	13000	6.5	7.3	6.7	10	9	2.9	0.37	26
四滝	1回目	240	330	330	<1.8	1.8	390	33	180	20.0	26.5	7.0	0.8	1	0.12	0.004	4
	AA 2回目	490	130	70	4.5	49	11	<1.8	<1	3.5	8.0	7.3	<0.5	<1	0.10	0.003	5
環境基準	BGLB	pH		BOD	SS		透視度 今井橋秋季 10cm,野依橋春季 8cm										
	AA	50			1	25	宇治橋春季 8cm,朝明橋冬期 17cm										
	A	1000	6.5~8.5		2	25	その他すべて>30cm										
	B	5000			3	25											
C	設定なし			5	50												

れた結果は人為的な汚染を反映していることが予想される。

芦立は、生下水及び河川水のふん便性大腸菌群と大腸菌群数の比率(mFC/BGLB)を調査している<sup>3)</sup>。その結果、生活排水が排出された時点ではこの比率は0.3程度、汚染の進行している河川は0.1～0.2で、清澄な河川ほどこの比率が小さい傾向にあった。

表4は本調査のふん便性大腸菌群/大腸菌群数(mFC/BGLB)を河川類型別に集計したものである。表4からわかるとおり、河川類型による区分では、汚濁が進行している河川ほどmFC/BGLBの値が大きい傾向にあった。また図1はmFC/BGLBが0.1を上回った頻度(%)であるが、やはりタイプのランクが低くなる、すなわち汚濁が進行するにつれてこの頻度は上昇する傾向にあった。これらは芦立らの報告と同様の傾向であった。

一方、調査時期別に見た頻度では、mFC/BGLBは夏期に小さく冬期に大きい傾向が見られた。本調

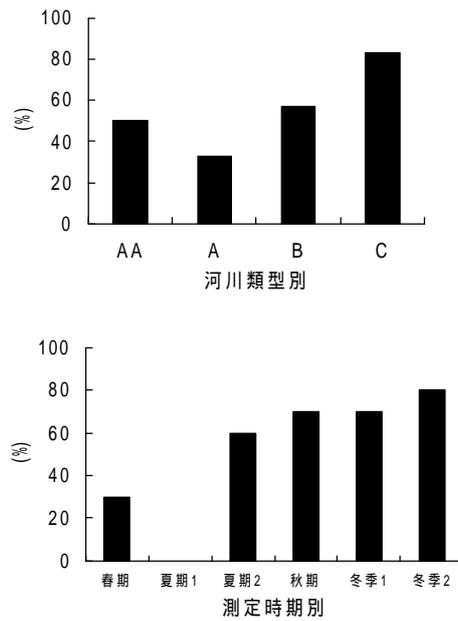


図1 mFC/BGLBが0.1を上回った割合

査では河川の水位、すなわち水量が夏期に多く冬

表4 各地点のmFC/BGLB

測定時期	河川類型			
	AA	A	B	C
春期	飛瀬浦橋 0.02	御山荘橋 0.00	荒木橋 0.01	今井橋 0.47
夏期1	0.02	0.01	0.02	0.00
夏期2	0.05	0.02	0.15	0.70
秋期	0.12	0.18	0.03	0.62
冬季1	0.45	0.03	0.17	0.29
冬季2	0.15	0.41	0.09	3.33
春期	宇治橋 0.01	雲出橋 0.02	大野橋 0.45	野依橋 0.16
夏期1	0.01	0.03	0.05	0.03
夏期2	0.50	0.14	0.35	0.11
秋期	0.63	0.02	0.16	1.65
冬季1	0.64	0.08	0.13	1.12
冬季2	0.04	0.25	0.26	0.11
春期		中部大橋 0.00		
夏期1		0.02		
夏期2		0.05		
秋期		0.06		
冬季1		0.54		
冬季2		0.13		
春期		岩出 0.01		
夏期1		0.02		
夏期2		0.09		
秋期		0.16		
冬季1		0.09		
冬季2		0.14		

■:0.1を上回ったもの

期に少ない傾向が見られたことから、流入排水と河川水量の比率の影響を受けているものと考えられる。

### 3 - 3 . 細菌数の相関性

表5は全データの相関行列である。大腸菌群G、ふん便性大腸菌Gおよびふん便性連鎖球菌Gは各グループ内の項目で、ほぼ同類の細菌(群)を検出しているものと見られる。グループ内の項目の間では当然のことながら、例えばBGLB-LBBGが0.84、AC-mENは0.92など、おおむね高い相関があったが、グループが異なると全体に相関性は低下した。

常時監視で大腸菌群数を測定するBGLB法と、その他一部の項目の散布図を図2に示した。LBBG及びONPGとは高い相関があり、その他の細菌類とも相関係数が0.7~0.8位で、ふん便に由来する細菌の数をある程度反映していると思われる。また常時監視の結果を解析したところ、季節による変動が認められたことから、水温との高い相関性があると予想されたが、相関係数は0.32で、散布図のとおりわずかに右上がりの傾向が認められた程度であった。その他、BODとの相関係数は0.44、T-N、T-Pとはそれぞれ0.32、0.26であった。

常時監視で大腸菌群数を測定するBGLB法と、その他一部の項目の散布図を図2に示した。LBBG及びONPGとは高い相関があり、その他の細菌類とも相関係数が0.7~0.8位で、ふん便に由来する細菌の数をある程度反映していると思われる。また前報<sup>4)</sup>で常時監視の結果を解析したところ、大腸菌群数の季節による変動が有意に認められた。このことから、大腸菌群数は水温と高い相関性があると予想されたが、相関係数は0.32で、散布図のとおりわずかに右上がりの傾向が認められた程度であった。その他、BODとの相関係数は0.44、T-N、T-Pとはそれぞれ0.32、0.26であった。

### 3 - 4 . 細菌の比率の季節による変動

前報<sup>4)</sup>で我々は常時監視の測定値を解析して、測定時期による変動の傾向を調査した。表1の今井橋以下10地点の月間の測定値で、過去10年間分のデータで解析を行った。その結果、ほとんどの地点で季節的な変動、すなわち夏期に高く、冬季に低いという傾向が確認された。

一方、図3は本調査における大腸菌群数等を地点、項目別に表したものである。大部分の地点・

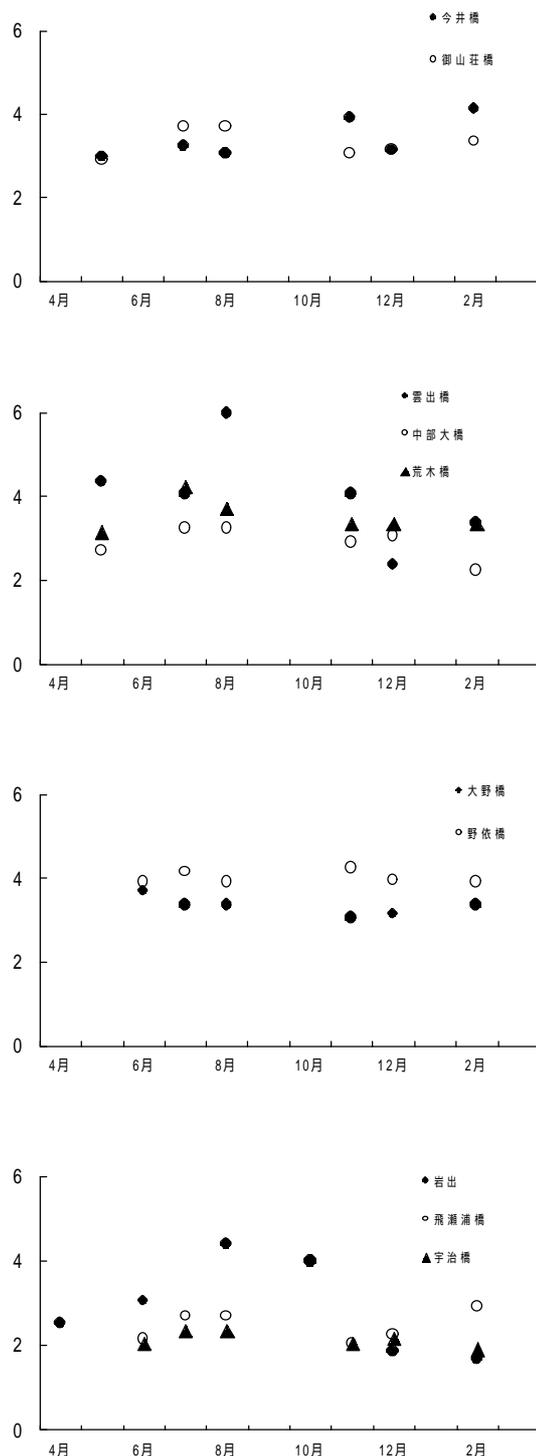


図4 平成11年度常時監視結果

項目で調査時期ごとに大きな変動を現し、各項目とも調査時期に伴う変動傾向は小さいと考えられる。常時監視でも採用されているBGLB法の結果に注目しても、上記のような傾向は、中部大橋、荒木橋及び岩出等でわずかに観察されたにとどまった。また図4は、本調査と同じ月に実施した常時

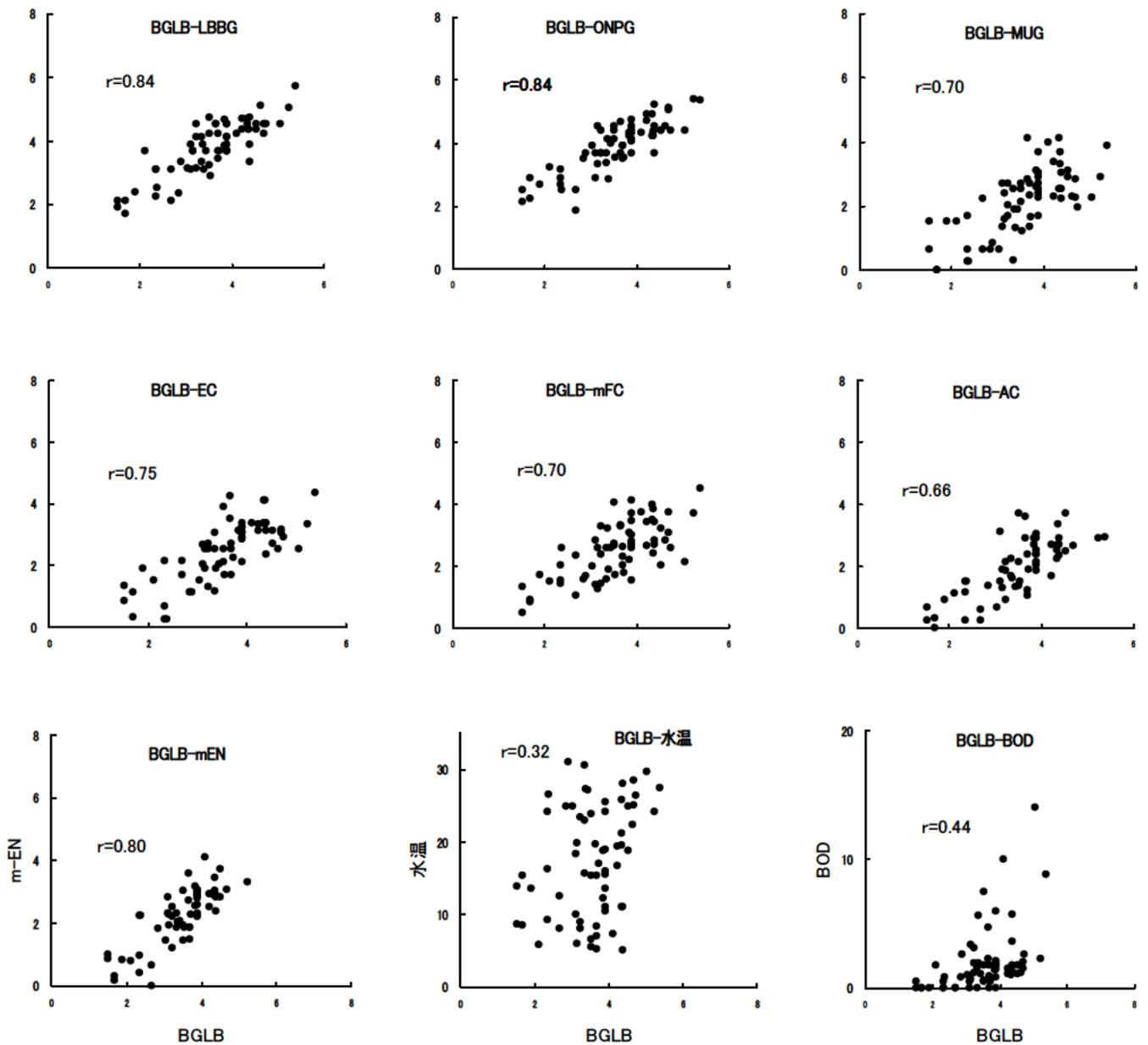


図2 BGLGと他の項目、散布図

表5 全調査結果の相関行列

	BGLB	LBBG	ONPG	MUG	EC	m-FC	AC	m-EN	気温	水温	pH	BOD	SS	T-N	T-P	Cl	水位
BGLB	1.00																
LBBG	0.84	1.00															
ONPG	0.84	0.86	1.00														
MUG	0.70	0.79	0.74	1.00													
EC	0.75	0.79	0.74	0.90	1.00												
m-FC	0.70	0.78	0.76	0.78	0.78	1.00											
AC	0.66	0.72	0.70	0.80	0.79	0.71	1.00										
m-EN	0.80	0.75	0.78	0.79	0.79	0.73	0.92	1.00									
気温	0.32	0.13	0.25	-0.07	0.04	0.03	-0.02	0.24	1.00								
水温	0.32	0.11	0.22	-0.10	-0.01	0.05	-0.05	0.22	0.95	1.00							
pH	-0.03	-0.04	-0.01	-0.17	-0.15	-0.17	-0.21	-0.20	0.31	0.31	1.00						
BOD	0.44	0.47	0.45	0.47	0.47	0.48	0.41	0.55	0.03	0.10	0.23	1.00					
SS	0.27	0.23	0.19	0.23	0.26	0.09	0.29	0.34	0.19	0.12	0.05	0.34	1.00				
T-N	0.32	0.44	0.47	0.49	0.53	0.58	0.46	0.43	-0.18	-0.18	0.03	0.73	0.24	1.00			
T-P	0.26	0.35	0.41	0.42	0.46	0.51	0.40	0.38	-0.16	-0.16	0.13	0.76	0.21	0.94	1.00		
Cl	0.03	0.10	0.11	0.11	0.22	0.25	0.26	0.15	-0.18	-0.20	-0.08	0.32	0.06	0.60	0.63	1.00	
水位	0.11	0.26	0.07	0.04	0.10	0.06	0.17	0.17	0.28	0.23	-0.06	0.06	0.31	0.00	-0.02	0.14	1.00

細菌類

監視結果<sup>5)</sup>である。図4でも図3と同様に、季節による大腸菌群数の変動の傾向が認められた地点は少なかった。大腸菌群をはじめとして、細菌数の測定結果は一般に変動が大きい、細菌数に関して季節的な変動の傾向を把握するためには長期間の測定が必要であると思われる。

### 3-5. ふん便性連鎖球菌による汚染源の推定

ふん便性連鎖球菌は大腸菌と同様に、ヒトあるいは動物のふん便に特異的に存在する。それゆえ、主として上水試験法等でふん便汚染の指標の一つとして使用されている。

さらに河川水のふん便性連鎖球菌と、ふん便性大腸菌との数の比率 (m-FC/m-EN) から排出源を類推する試みがなされている<sup>6)</sup>。すなわち、

>4 : ヒトからの汚染

m-FC/m-EN <0.7 : ヒト以外の動物による汚染

0.7~4 : それらが混合したもの

と判定する。

一方でこの判定方法は次の問題点が指摘されている。すなわち、m-ENは河川水での寿命がm-FCより長いという点、また、この比率は地域、動物の種類等で異なるという点である。しかしながらm-FC/m-ENの低いほどヒトによる汚染の傾向が強いという見方はできるものと考えられる。

本調査結果についてもm-FC/m-ENの比を利用して判定を試みた。その結果、全データでは汚染の起源がヒトが中心:32%、中間:38%、動物が中心:30%であった。また地点別で見ると、水質の良好な地点ではm-FC/m-ENが低く、その逆では高いという傾向が見られた(表6)。そこで河川の類型別に集計したところ、類型のランクが高いほどふん便の汚染は動物由来、ランクが下がるとヒト由来という傾向があった。

また、上流と下流で比率を比較したところ、下流側で比率が上昇する傾向があった。このことから、これら調査地点の中間でヒト由来のふん便による汚濁の負荷の流入があったものと推測した。

### 4. まとめ

三重県内の公共用水域の大腸菌群等を調査したところ、つぎのとおりであった。

表6 各調査地点のm-FCとm-ENの比率

地点名	類型	m-FC/m-EN 頻度		
		>4	4>, >0.7	0.7>
今井橋	C	4		1
御山荘橋	A		3	2
雲出橋	A		2	1
中部大橋	A	1	2	2
荒木橋	B	2	2	1
大野橋	B	3	3	
野依橋	C	4	2	
岩出	A	1	3	2
飛瀬浦橋	AA	2	1	3
宇治橋	AA	1	2	3
芝床橋	B		1	
朝明橋	A			1
四滝	AA			1
合計/(%)		18 (32)	21 (38)	17 (30)
	AA	3	4	7
類型別 頻度	A	2	10	8
	B	5	6	1
	C	8	2	1

(1) ふん便性大腸菌群およびふん便性連鎖球菌の割合は大腸菌群と比較して、1/10~1/100であった。また、汚染が進行している河川ほどこの割合が大きい傾向であった。

(2) BGLBと、他の細菌の相関性はおおむね高い値であった。

(3) 各細菌数は測定時期ごとに大きく変動したが、その変動に一定の傾向は確認されなかった。

(4) ふん便性大腸菌群とふん便性連鎖球菌の比率からし尿による汚染の発生源を推定したところ、汚染が進行している河川ほど人為由来の汚染である傾向が強かった。

### 参考文献

- 1) 上野 英世, 大腸菌群の周辺, 用水と排水, 19, 5, 33-43, 1977
- 2) 加藤 進, 松岡行利, 金丸 豪, 園部 実, 主要河川におけるフン便性汚濁指標細菌の分布, 三重県環境科学センタ - 研究報告, 3, 39-43, 1982
- 3) 芦立徳厚: 水質環境基準項目としての大腸菌群の評価、用水と廃水, 30, (3), 17-26, 1988
- 4) 岩崎 誠二, 地主 昭博, 松井 孝悦, 三重県内

大腸菌群G(BGLB,LBBG,ONPG)

ふん便性大腸菌G(MUG,EC,m-FC)

ふん便性連鎖球菌G(AC,m-EN)

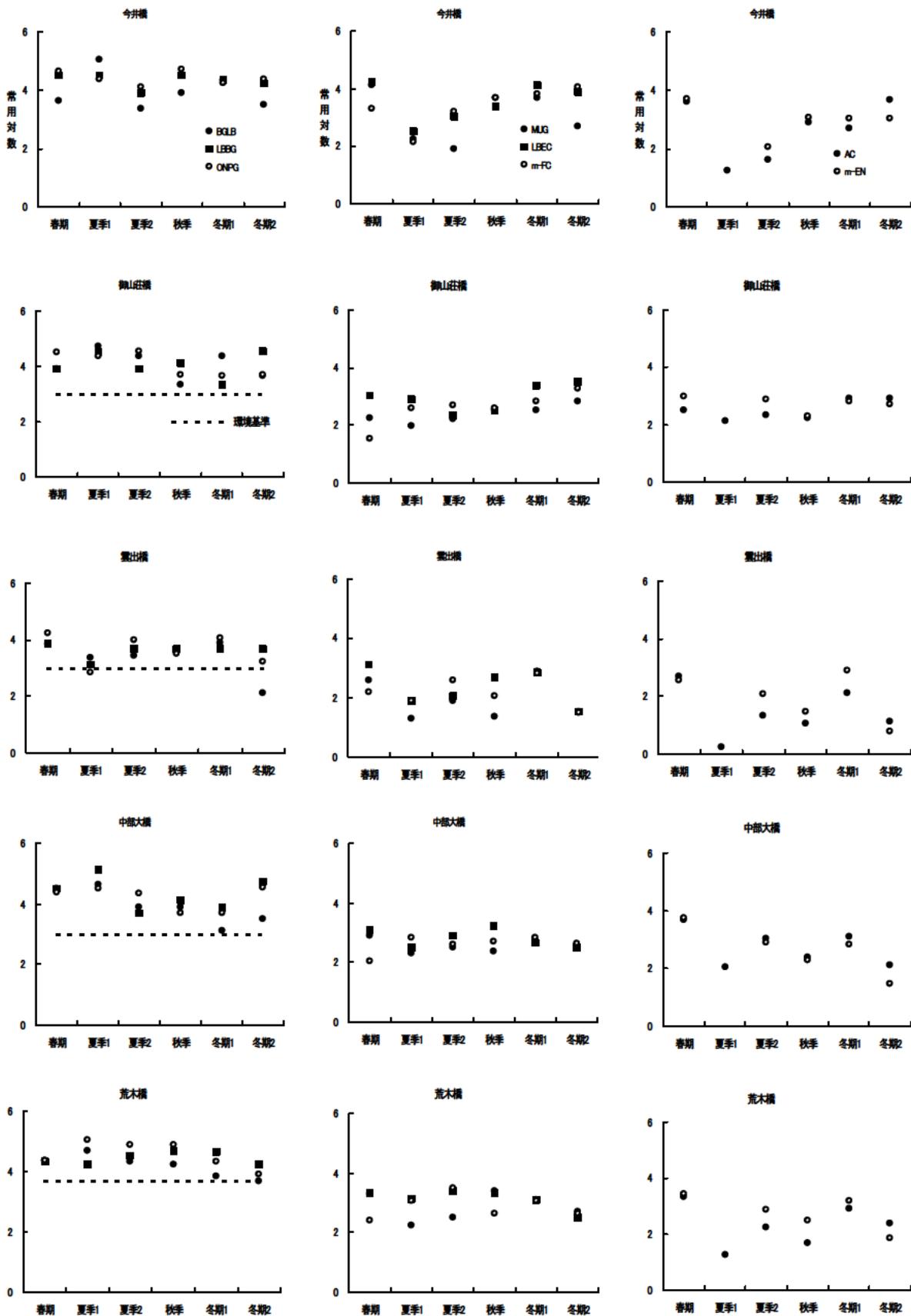


図 3 細菌数の調査時期による変動

大腸菌群G(BGLB,LBBG,ONPG)

ふん便性大腸菌G(MUG,EC,m-FC)

ふん便性連鎖球菌G(AC,m-EN)

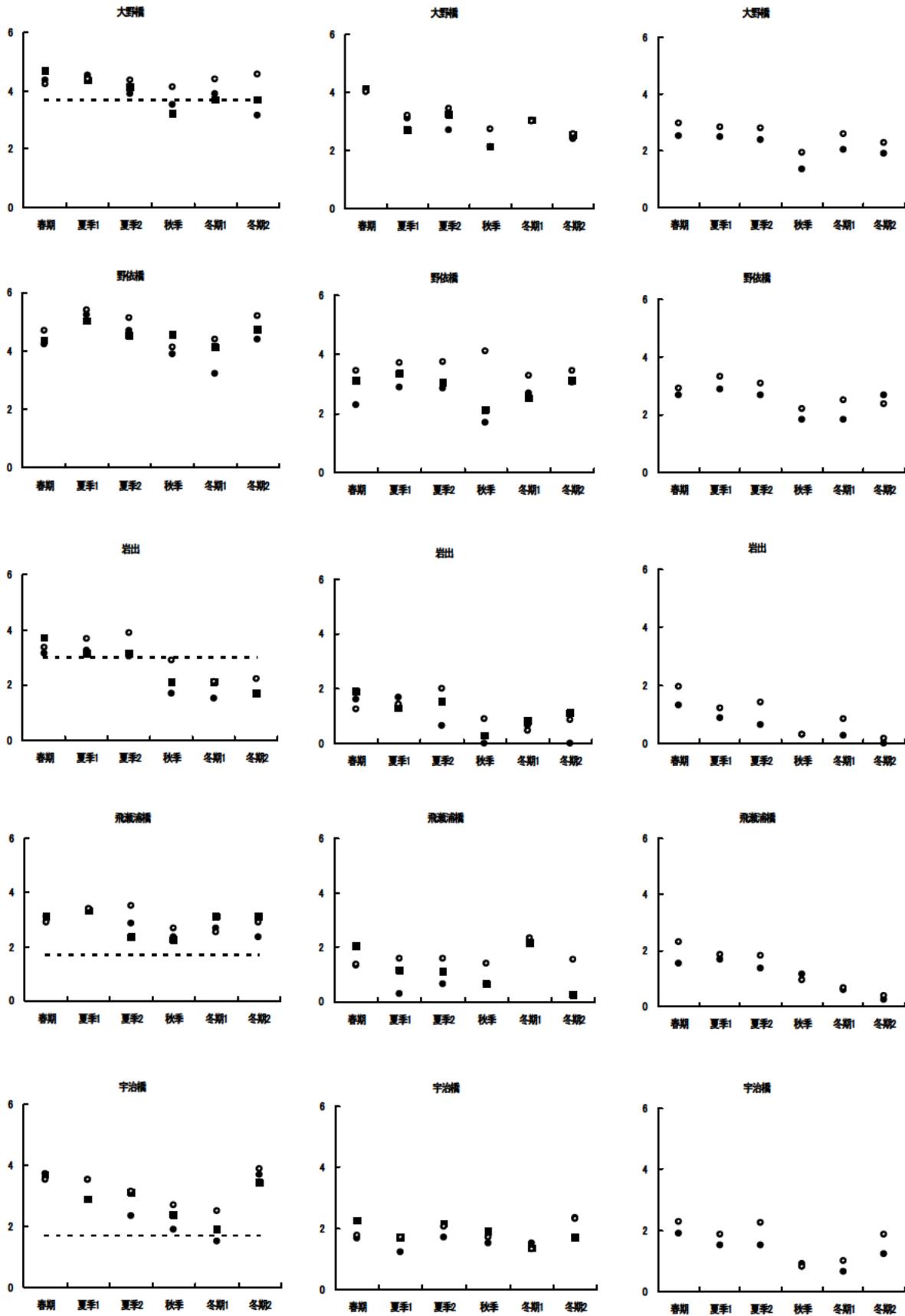


図 3 細菌数の調査時期による変動(つづき)

の河川における大腸菌群の数種の培地による生育 結果,三重県,1999  
比較,三重県環境科学センタ - 研究報告,19,99- 6)市川 久浩,松本淳彦,平田 強,荒井 和之,上  
107,1999 水試験方法の改訂に伴う試験方法の検討,第44回  
5)平成10年度 公共用水域及び地下水の水質測定 全国水道研究発表会講演要旨集,801~803,1993

#### A Study on Method of Quantity for Coliforms

Seiji IWASAKI,Akihiro JINUSHI,Takayoshi MATSI and Shigeo SAEKI

The amount of coliforms and another bacteria were measured at 13 public waters points in Mie prefecture. They were measured 6 times during a year to use 8 kinds of media detectable for coliforms, fecal coliforms or fecal Streptococci. The amount of fecal coliforms were about 0.1 to 0.01 times of coliforms, and there were little seasonal variations. We tried to estimate the pollution source with the calculation of ratio between fecal coliforms and fecal Streptococci. The pollution source was tending to humans for polluted river and animals for rural river.