

バイオセンサを用いた急性毒性物質の連続自動監視装置の開発

田中 良春* 田口 和之* 大戸 時喜雄* 星川 寛*
佐々木 弘** 三森 裕司** 斎藤 芳雄** 鹿志村 修***

* (株) 富士電機総合研究所 水処理・バイオ研究所 神奈川県横須賀市長坂 2-2-1

** 富士電機(株) 公共システム事業部 東京都日野市富士町1番地

*** 富士電機(株) 計測システム事業部 東京都日野市富士町1番地

概要

有害物質に対して極めて鋭敏な微生物である硝化細菌を用いたバイオセンサを利用し、有害物質による微生物の呼吸量の低下を直接検出することを測定原理とした、水道原水の急性毒性物質を連続的に監視する装置を開発・製品化した。

本報告では、(1)測定原理と装置の構成、(2)センサの各種毒性物質への応答、(3)浄水場取水の連続的モニタリング結果について述べる。

キーワード

バイオアッセイ バイオセンサ 硝化菌 急性毒性物質 水質監視 安全性

1. はじめに

近年、水道水には量の確保に加え、より良質な「安全でおいしい水」の供給が求められてきている。一方、水源である湖沼や河川には、流域の人口の増加や集中、産業の高度化により、生活排水や様々な化学物質が流入し、水質が年々悪化している。このような背景から、1992年に水道水質基準が改定された。また、有機溶剤や農薬などの毒性物質の流出による突発的な水質事故に対する対策の強化についても重要な課題となってきており、水源水質の常時自動監視の必要性は高まる一方である。しかしながら、個々の規制項目に関して適切な水質分析を常時行うことはきわめて難しい。

生物を用いた水質評価手法(バイオアッセイ)は、個々の有害物質の濃度を基準に評価する従来の化学分析を補完する手法と考えられ、毒性物質のスクリーニングや常時連続監視にきわめて有効な方法と考えられる。

筆者らは、硝化細菌が有害物質に対して極めて鋭敏であることに着目し、この微生物の呼吸量を直接検出するバイオセンサを利用した水中の急性毒性物質の常時監視装置を開発・製品化した。

以下に、(1)測定原理と装置の構成、(2)各種毒性物質への応答、(3)連続モニタリング結果について報告する。

2. 測定原理と装置の構成

2.1 測定原理

純粋培養した硝化菌 (*Nitrosomonas europaea*) を固定化した固定化微生物膜を溶存酸素電極に装着し、呼吸活性検知型のバイオセンサを構成する (図-1)。硝化菌の基質となるアンモニア性窒素を検水と混合後、空気とともに連続的にセンサに供給し、膜内の硝化菌のアンモニア酸化による溶存酸素の消費量を連続的に監視し、硝化菌のアンモニア酸化活性の毒物による阻害を溶存酸素の消費量の減少として検出する (図-2)。¹⁾

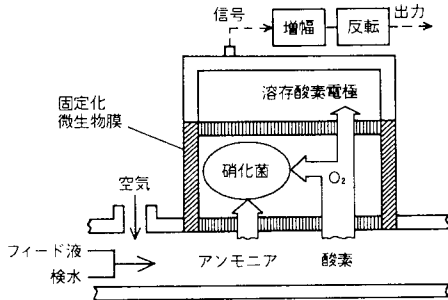


図-1 センサの構成

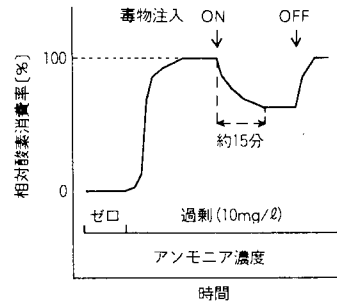


図-2 応答模式図

2.2 装置の構成

図-3 に装置の構成を示す。まず、緩衝液と純水を流し、ベース電流値 (硝化菌の内省呼吸レベル) を測定後、アンモニア性窒素を含む緩衝溶液 (フィード液) と純水を流し、センサの出力電流値 (硝化菌のアンモニア酸化による呼吸量) を測定し、ベース電流と出力電流の差を正常時の値を 100% 出力として記憶させる。次に検水にフィード液を混合して連続的に流し、膜内に固定化された硝化菌の酸素消費量を連続的に測定する。検水中に毒物が混入し、硝化菌の呼吸活性が低下し、予め設定したレベルよりもセンサ出力が低下した場合には、アラームで水質異常を知らせると同時に採水ポンプが稼動し、精密化学分析用に検水を採水・保存できるようになっている。

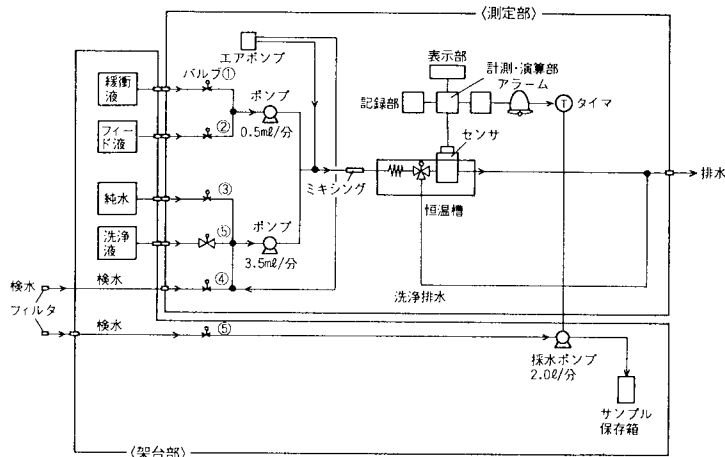


図-3 急性毒物監視装置の構成

3. センサの各種毒性物質に対する応答

3. 1 応答時間

代表的な毒性物質であるシアン (KCN) および農薬のチウラムに対する応答例を図-4に示す。毒物注入後、センサの相対出力は徐々に低下し、約15分程度でほぼ平衡となる。物質の特定はできないが、本センサは生物にとって有害な物質の混入を約15~20分程度の短時間で検出可能であることがわかった。

3. 2 各種有害物質に対する感度

バイオセンサの出力が15分で10%低下する濃度を検出可能濃度としたときの本装置の各種有害物質に対する感度は表-1のようになった。

表-1中、右側には魚の半数致死濃度²⁾、米国EPAで毒性試験に利用されている発光バクテリアを用いた Microtox[®]³⁾の5分値、ミジンコ (D. magna) のLC₅₀⁴⁾を比較のために示した。硝化菌を用いたバイオセンサは、(1) 水道水質基準の濃度レベルすなわち慢性毒性の濃度レベルは検出できないが、急性毒性の濃度レベルを短時間(20分以内)に検出可能であること、(2) 物質によって感度に差があるものの、他のバイオアッセイと比較し、幅広い毒性物質を約2~10倍(平均約9倍程度)感度良く検出できることがわかった。

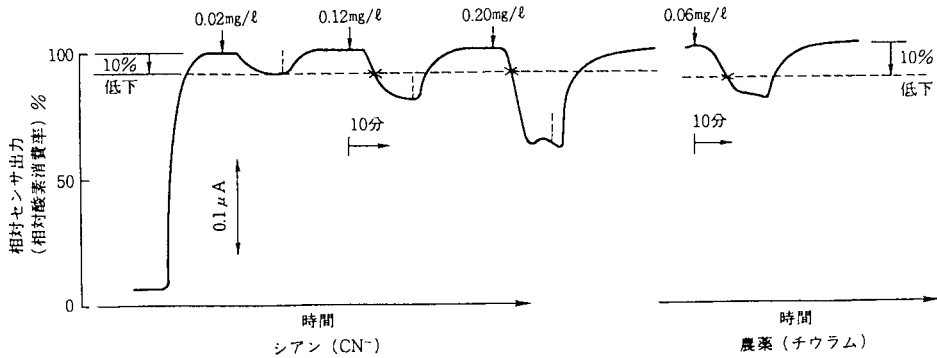


図-4 シアン (KCN)、チウラムへのセンサの応答

表-1 バイオセンサの検出感度と他のバイオアッセイとの比較

化学物質	バイオセンサ (10%出力低下時)	魚 (半数致死濃度 TL _m 値) ²⁾	Microtox [®] (5分値) ³⁾	D. magna (LC ₅₀) ⁴⁾
シアン化カリウム	0.05	0.48 ~ 0.78 鯉 (48hr)	8.5	
フェノール	0.7	24.7 鯉 (24hr)	18	
トリクロロエチレン	9	45 フルキ (96hr)	960	94 (48hr)
テトラクロロエチレン	6	13 フルキ (96hr)	90	4 (16 d)
1,1,2トリクロロエタン	10		110	43
1,2ジクロロエタン	60	4307 フルキ (96hr)	700	220 (48hr)

(単位は、mg/L)

4. 浄水場取水の連続モニタリング実験結果

4.1 センサの安定性

0市1浄水場において、平成3年10月より平成4年7月までの9ヶ月間、取水の連続モニタリング実験を実施した。約7ヶ月間のセンサの相対出力の経時変化を図-5に示す。固定化微生物膜装着後、センサ出力は若干増加した後、時間の経過とともに徐々に減少し、約6ヶ月で初期出力の50%に低下した。よって、微生物膜は6ヶ月程度使用可能と考えられた。

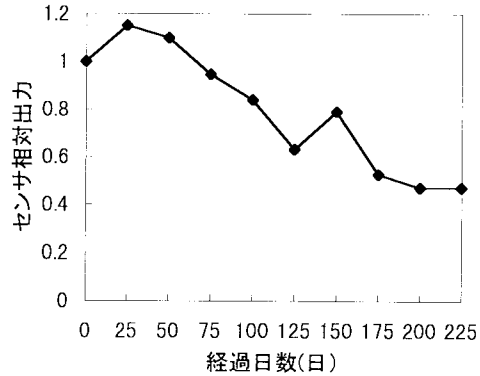


図-5 センサ出力の経時変化

4.2 感度変化

実験期間中、特に取水水質の異常は認められず、このため定期的に有機溶剤のアセトンを用いてセンサの感度の測定を行った。

4ヶ月間の測定結果を図-6に示す。センサの出力は徐々に低下するが、定期的にセンサの自動校正を行うことにより、毒性物質に対する感度（硝化菌が阻害を受ける割合）はほぼ一定であることがわかり、長期間安定にモニタリングできることがわかった。

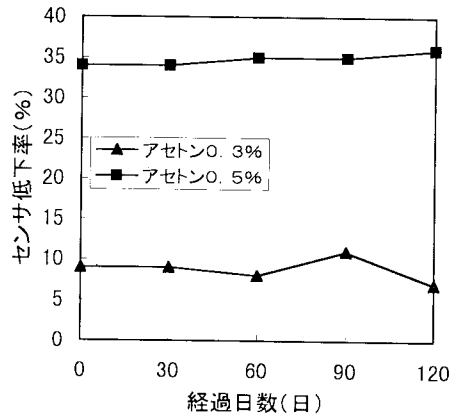


図-6 センサ感度の経時変化

5. まとめ

有害物質に対して極めて鋭敏な微生物である硝化菌を用いた呼吸活性検知型バイオセンサによる急性毒性物質監視装置の特性について報告した。本装置は、浄水場取水への急性毒性物質の混入の監視に有効と考えられる。今後、河川での水質事故監視や産業排水の自動監視への応用などへ広く展開して行きたいと考えている。

最後に、本装置の実験にご協力頂きました関係各位に厚く御礼申し上げます。

引用文献

- 1) 田中、秋川、星川 第43回全国水道研究発表会 講演要旨集 762-728(1992)
- 2) 日本水道協会 上水試験方法・解説 642-658(1993)
- 3) Diane J.W. Blum, R.E. Speece J. WPCF Vol. 63(3) 198-207(1991)
- 4) 森田、石黒編 新しい水質環境基準とその分析法 17-27 環境科学研究会(1993)