

<論文>

硝化細菌バイオセンサの微生物膜活性の定量化手法
および有害物質検出感度の向上手法の基礎検討

The Quantification of Immobilized Microbial Membrane Activity and the Improvement of Sensitivity for Toxicants in Biosensors Using Nitrifying Bacteria

○ 乾 貴誌¹, 田中良春¹, 岡安祐司², 田中宏明³

1. 富士電機アドバンステクノロジー(株)
2. 独立行政法人 土木研究所
3. 京都大学大学院工学研究科

T. Inui¹, Y. Tanaka¹, Y. Okayasu² and H. Tanaka²

1. Fuji Electric Advanced Technology co., Ltd.
2. Public Works Research Institute
3. Graduate School of Engineering, Kyoto University

We have developed biosensors using nitrifying bacteria in order to detect toxicants in purified water, river water and wastewater. Generally, the toxicants sensitivity of biosensors, which are continuously monitoring the respiration rate of bacteria, is inversely related to bacteria activity in biosensors, therefore it has been needed to resolve the variation of the sensitivity because of bacteria activity changing while biosensors are operating. In this paper, we define oxygen consumption ratio (OCR) as the relative bacteria activity in biosensors and research correlation between the sensitivity and parameters of OCR. We find that operating temperature is the most efficient parameter to increase the sensitivity and control the OCR. In results we can increase the sensitivity by ten-fold and reduce the variation of the sensitivity during three months operation. We also define OCR dependence on substrate concentration as the bacteria activity in biosensors; therefore we become to be able to compare correctly the sensitivity of biosensors using that between ammonia oxidizing bacteria and nitrite oxidizing bacteria.

Key words: nitrifying bacteria, biosensor, sensitivity, activity, oxygen consumption ratio

1. はじめに

図1に示すように、河川での水質事故発生件数や下水道への悪質排水流入事例は年々増加する傾向にある。水質事故発生源については不明な場合が多く、現状は事故発生時の即時対応や事故低減対策が困難であるため、河川や下水道での水質連続監視システムや前記システムを用いた事故対応体制の構築が重要となってきている。事故原因の一つである環境水中の有害物質は多種多様であるため、単一の有害物質を全て計測、分析することは困難であることや、単一物質では毒性が低くても、混在物質との相加相乗効果により毒性が上昇することが懸念されることから、生物や生体材料を用いた総合的毒性評価手法であるバイオアッセイを水質連続監視に適用することが有効と考えられる。

上記背景から、我々は下水処理の硝化工程を担う微生物であり、低濃度の有害物質でも呼吸が阻害されやすい硝化細菌を用いた有害物質検出用呼吸活性連続監視型バイオセンサ(以後、毒物センサと表記)を開発、実用化し、浄水場や河川水質監視所への導入の推進^{2),3)}および下水道への展開^{4),5)}を行っている。

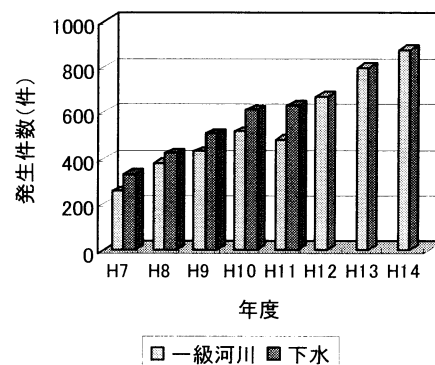


図1. 一級河川での水質事故発生件数および下水道への悪質排水流入事例数

2. 検出感度の変動

2-1. 測定原理

図2に毒物センサの装置構成を示す。毒物センサは、硝化細菌の一種であるアンモニア酸化細菌(*Nitrosomonas europaea*: ATCC25978、以後 *Ns* と表記)、あるいは亜硝酸酸化細菌(*Nitrobacter winogradskyi*: IFO14297、以後 *Nb* と表記)を固定化した微生物膜と溶存酸素電極をフローセルに装着することで構成される硝化細菌バイオセンサを核として、送風/送液機構、流路切替機構と各機構の制御部を内蔵する。図3にセンサ出力の挙動の一例を示す。センサ校正值は、基質を含まない緩衝液と純水を流した(硝化細菌が溶存酸素を消費しない)時のセンサ出力値Aと、基質を含む緩衝液(以後、フィード液と表記)と純水を流した(硝化細菌が溶存酸素を消費する)時のセンサ出力値Bの差分(A-B)を用いる。試料水中に硝化細菌の呼吸を阻害するような有害物質が存在すると、試料水中の溶存酸素濃度が上昇してセンサ出力が増加する。このときのセンサ出力値Cとセンサ校正值を用いて、(1)式のように呼吸阻害率を求めることができる。毒物センサにおいて設定した呼吸阻害率の閾値(再現性や誤警報防止の観点から通常10%に設定)を超えた場合に、試料水中の有害物質検知の警報を出力する。この際、採水装置が稼動し、有害物質特定のため、精密化学分析用に試料水を保存する。

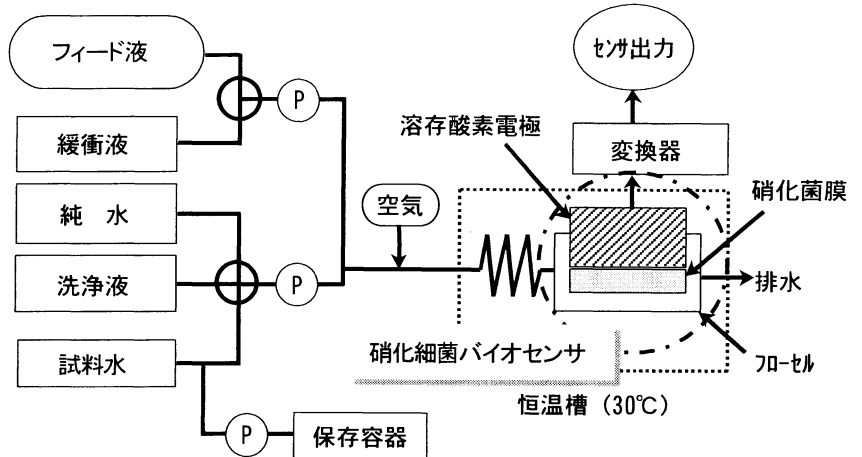


図2. 毒物センサの装置構成

呼吸阻害率(%) = (C-B) / (A-B) × 100 (1)

2-2. 微生物膜活性と検出感度との関係

図4に2週間連続運転中のセンサ出力の推移と感度試験結果を示す。なお、感度試験では擬似毒物としてアセトンを用い、センサ校正後、0.3, 0.5, 0.8v/v% アセトンの順に、それぞれ20分間注入した時の呼吸阻害率で感度評価を行った。なお、アセトンは感度試験前後でセンサ出力の変動が殆ど無いことから、擬似毒物として選定した。図5に運転2, 7, 14日目のアセトン用量作用曲線を示す。また、表1に図5から求めたアセトンの警報閾値時濃度(以後、EC₁₀と表記)を示す。連続運転期間中、EC₁₀は0.25~0.85v/v%の範囲で大きく変動していた。これは、微生物膜内の菌の状態変化によるものと考えられる。

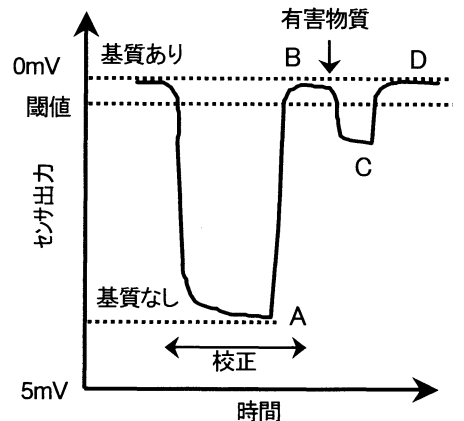


図3. 毒物センサの挙動例

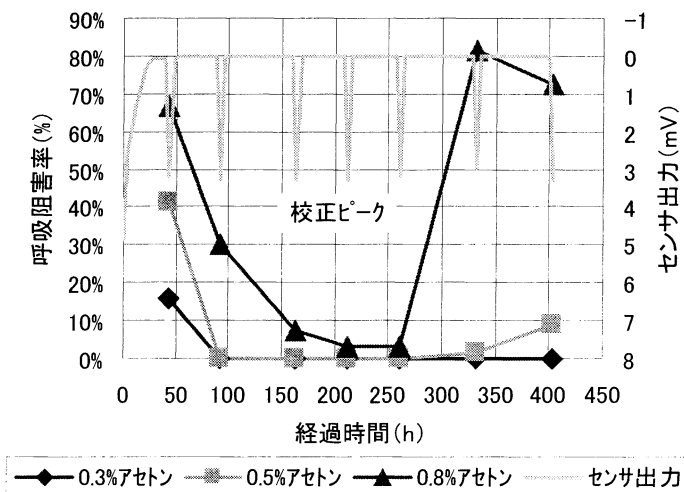


図4. 2週間連続運転中のセンサ出力およびアセトン感度の推移

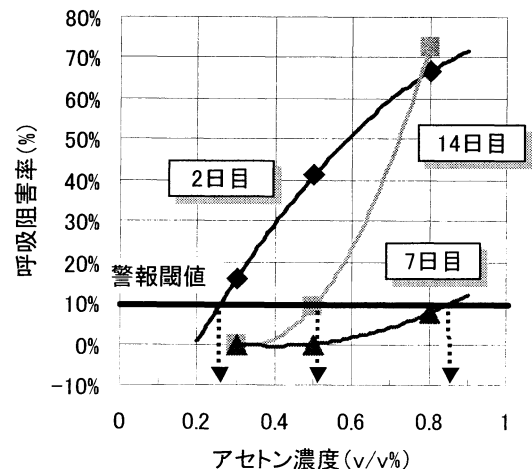


図5. アセトン用量作用曲線の推移

微生物膜の活性状態は(以後、微生物膜活性と表記)膜内の菌数と菌1個の活性との積に依存し、センサ運転中に菌の増殖サイクルや試料水の水質により微生物膜活性が上下する、と考えられる。検出感度が低下するのは、微生物膜活性が上昇し、有害物質の影響を受け難くなるため、と考えられる。

また、連続運転期間中、センサ内の溶存酸素は全て消費され、測定状態でのセンサ出力は0mVで安定しており、校正値にも変動は見られなかったことから、センサ出力の推移を指標として、検出感度の変動を把握することは困難であることが分かった。

以上の結果から、毒物センサの検出感度の変動を抑えるには微生物膜活性を制御することが必要であり、運転温度や基質濃度といった微生物膜活性パラメータを操作するための微生物膜活性指標が必要であることが分かった。

本研究では、微生物膜の相対活性指標を考案し、前記指標と、毒物センサの各種運転条件および検出感度との関係を把握することを第一段階の目的とした。次に、前記指標を基に毒物センサの運転条件を操作して微生物膜活性を制御することにより、検出感度の向上および安定化を図ることを第二段階の目的とした。

表1. アセトンの EC₁₀ 値の推移

運転日数	EC ₁₀ (v/v%)
2	0.25
7	0.85
14	0.5

3. 微生物膜の相対活性指標と検出感度との関係

3-1. 酸素消費率の定義

本研究では、微生物膜の相対活性の基本指標として「酸素消費率」を次の様に定義することとした。基質を含まない緩衝液と純水を流した(硝化細菌が溶存酸素を消費しない)時のセンサ出力値 A (図3参照のこと)を酸素消費率 0%とし、センサ出力値 0mV、すなわち硝化細菌が溶存酸素を全て消費している時の酸素消費率を 100%とすると、測定中の任意の時点(センサ出力値 D)での酸素消費率は(2)式のように定義される。例えば A=3mV、D=0.3mV の時、酸素消費率は 90%となる。

$$\text{酸素消費率 (\%)} = (A - D) / A \times 100 \quad (2)$$

3-2. 活性値と検出感度との関係

本節では、センサ運転パラメータの一つである基質濃度と、微生物膜活性および検出感度との関係について説明する。

実験方法

異なる活性の微生物膜を装着した N_s センサ 4 個を並行運転し、基質濃度を規定濃度の 10, 20, 30%濃度(以後、基質濃度比 10%等と表記)としたフィード液と純水を通水して酸素消費率を低下させ、基質濃度比と酸素消費率が一次の関係となる領域での近似直線の傾きを、各微生物膜の「活性値」と定義して導出した(単位:無次元)。

なお、測定中のセンサ出力が試料水中の基質濃度の影響を受けないように、フィード液の基質濃度はセンサの基質消費量よりも過剰に設定する必要がある。そこで、フィード液中の基質の規定濃度は、基質濃度比 50%時の酸素消費率が、規定濃度時の酸素消費率の 90%以上となるように設定した。活性値導出後、0.3, 0.5, 0.8v/v%アセトンの順に、それぞれ 20 分間注入し、アセトン感度試験を実施した。

実験結果および考察

図6に酸素消費率と基質濃度比との関係を示す。基質濃度と酸素消費率が一次の関係となる領域は基質濃度 0~20%の範囲であった。図6から各微生物膜の活性値を求めた。図7にアセトン感度試験結果を示す。図7から各 N_s センサのアセトンの EC₁₀ を求めた。図8に各 N_s センサの活性値とアセトンの EC₁₀ の関係を示す。両者は良好な相関関係にあり、活性値が高いほど、有害物質の影響を受け難いため、EC₁₀ が大きくなる事が分かった。以上の結果から、活性値を基に微生物膜活性を判定し、検出感度を推定することが可能であることが分かった。また、感度試験時に活性値を求めておくことで、試験日時、供試物質、微生物膜等が異なる条件でも正確な感度比較が可能となると考えられる。

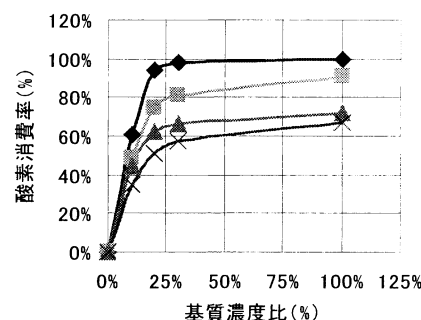


図6. 酸素消費率と基質濃度比との関係

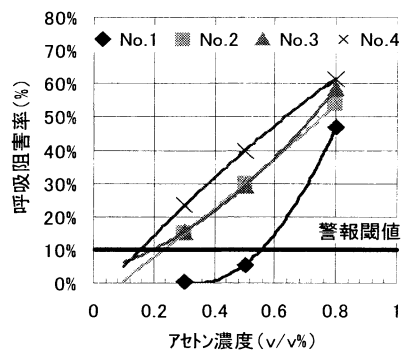


図7. 各 N_s センサのアセトン用量作用曲線

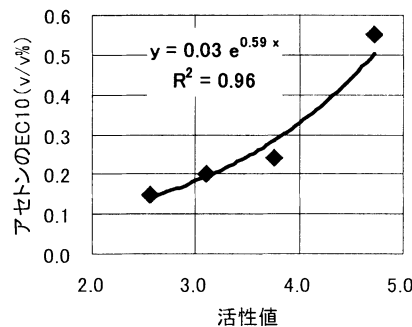


図8. 各 N_s センサの活性値とアセトンの EC₁₀

3-3. 活性値を基にした検出感度の比較

本節では、活性値を基に種々の異なる条件下で行った感度試験の比較結果を説明する。

3-3-1. 供試物質が異なる場合

実験方法

Nb センサ 4 個を用いて、シアン化カリウム (0.01, 0.05, 0.1mg/L)、6 価クロム (0.1, 1, 10mg/L)、砒素 (0.1, 1, 10, 50mg/L) の感度試験を活性値が高い時と低い時の 2 回行った。なお、試薬注入時間は 20 分とし、感度試験前に各 *Nb* センサの活性値を求めた。

実験結果および考察

各物質の感度試験結果を正確に比較するため、試験間で活性値のバラツキが最小となるように、4 つのセンサデータから 1 つを選定した。図 9.a にシアン化カリウム、図 9.b に 6 価クロム、図 9.c に砒素の用量作用曲線を示す。また、表 2 に図 9 より求めた各物質の EC_{10} を示す。下記のように、物質によって微生物膜活性の検出感度への影響度合が異なることが分かった。原因として、呼吸阻害のメカニズムの違いや微生物膜内への物質拡散の違いが想定される。

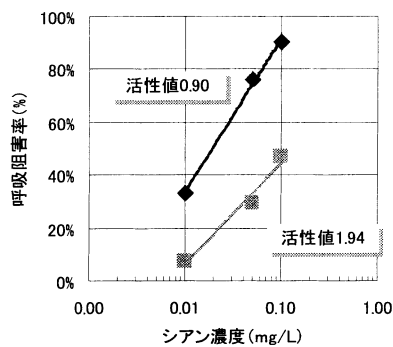
◎ シアン化カリウム：微生物膜活性の高低に関わらず EC_{10} が小さく、大きな阻害作用を示す。

◎ 6 価クロム：微生物膜活性が低いと EC_{10} が著しく小さくなり、大きな阻害作用を示す。

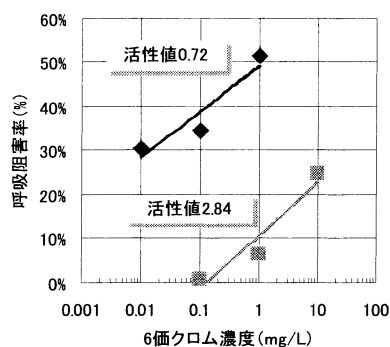
◎ 砒素：微生物膜活性が高いと阻害作用を示さない。

表 2. 各物質の *Nb* センサ EC_{10} と微生物膜活性との関係

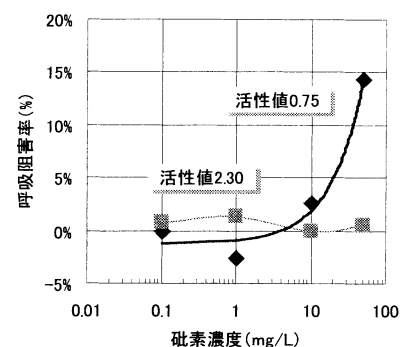
物質名	活性値		EC_{10} (mg/L)	
	高活性時	低活性時	高活性時	低活性時
シアン化カリウム	1.94	0.90	0.013	0.004
6 価クロム	2.84	0.72	0.88	0.0002
砒素	2.30	0.75	ND	36.0



a. シアン化カリウム



b. 6 価クロム



c. 砒素

図 9. 各物質の用量作用曲線と微生物膜活性との関係 (*Nb* センサ)

3-3-2. 微生物膜が異なる場合

実験方法

Ns, *Nb* センサを用いて、シアン化カリウム (0.01, 0.05, 0.1mg/L)、6 価クロム (0.1, 1, 10mg/L)、カドミウム (0.1, 1, 10mg/L)、鉛 (0.1, 1, 10mg/L) の感度試験を活性値が高い時と低い時の 2 回行った。なお、試薬注入時間は 20 分とし、感度試験前に各センサの活性値を求めた。

実験結果および考察

各物質の試験結果を正確に比較するために、試験間で活性値のバラツキが最小となるようにセンサデータを選定した。表 3 に前節と同様に用量作用曲線から求めた各物質の EC_{10} を示す。両センサの各物質に対する応答は異なっており、一方のセンサでしか検出できない物質 (6 価クロム、カドミウム) があることから、両センサを並列運転することで、検出可能な物質数が増加することが期待される。

表 3. *Ns*, *Nb* センサに対する各物質の EC_{10}

物質名	活性値		EC_{10} (mg/L)	
	<i>Ns</i> センサ	<i>Nb</i> センサ	<i>Ns</i> センサ	<i>Nb</i> センサ
シアン化カリウム	2.31	1.94	0.011	0.013
6 価クロム	3.24	2.84	ND	0.88
カドミウム	2.41	1.90	1.68	ND
鉛	2.89	2.75	ND	ND

4. 微生物膜の活性制御による感度向上および安定化

前章の結果から、微生物膜活性を低下させれば検出感度が向上することが明らかになったことから、本章では検出感度の向上および安定化を目的として、酸素消費率を微生物膜活性の指標とした、微生物膜活性のリアルタイム制御手法の検討を行った。操作可能なセンサ運転パラメータは「基質濃度」と「運転温度」である。本検討では N_5 センサを使用した。

なお、前章までに微生物膜活性の指標として用いた活性値は、値を求めるために測定を数時間中断する必要があるため、リアルタイム制御のための微生物膜活性指標として用いることはできない。

4-1. 基質濃度による活性制御手法の検討

本節では、基質濃度を操作した時の酸素消費率の挙動（応答時間、可逆性）と検出感度との関係について説明する。

4-1-1. リアルタイム制御性の検討

実験方法

3-2 節の結果において、基質濃度比を 30%以下に低下させれば酸素消費率が 100%から低下したことから、表 4 に示すシーケンスのように基質濃度を変えてセンサを運転し、各フェーズでアセトン感度試験 (0.3, 0.5, 0.8v/v%) を行った。なお、微生物膜活性の初期値は微生物膜中の菌量で調整可能であり、今回は培養液量 10mL 分を微生物膜に固定化した（以後、10mL 膜のように表記）。

実験結果および考察

表 4 に前記運転実施時の酸素消費率とアセトン感度の推移を併せて示す。Phase1 において、酸素消費率は 100%、 EC_{10} は 0.55v/v%であった。Phase2, 3 において、基質濃度を 30%に低減させたところ、酸素消費率が約 90%にまで漸減すると共に呼吸阻害率が上昇し、 EC_{10} は 0.33v/v%に低下した。Phase4, 5 において、基質濃度を規定値に戻して運転したが、酸素消費率の初期値に復帰するのに 6 日間を要した。これは、基質濃度比を 30%に低減して 12 時間運転したことで、微生物膜活性が不可逆的に低下したため、と考えられる。アセトン感度は酸素消費率上昇と共に低下し、 EC_{10} は 0.73v/v%にまで上昇した。

以上の結果から、酸素消費率を制御指標とし、基質濃度を操作することで、12 時間以内に検出感度を約 2 倍に向上させることが可能であった。一方、酸素消費率を 100%から 90%に低下させるのに要した時間は数時間程度であったが、100%に復帰させるのに要した時間は数日程度であり、短時間での酸素消費率可逆性を得ることは困難であった。

4-1-2. 基質濃度と、微生物膜活性および検出感度との関係

実験方法

微生物膜活性の初期値を 3 条件 (5, 7, 10mL 膜) 設定し、センサ 3 個を並行運転して、基質濃度比を 100%から 10% ずつ低減し、酸素消費率が安定した時点で 0.3v/v%アセトン感度試験を行った。

実験結果および考察

図 10 に基質濃度比を操作した場合の酸素消費率の推移と 0.3v/v%アセトン感度試験結果を示す。基質濃度比 40%以下になると、微生物膜活性の初期値の高低に拘らず酸素消費率が低下した。検出感度については、7, 10mL 膜では酸素消費率低下と共に呼吸阻害率が上昇したが、微生物膜活性の低い 5mL 膜では呼吸阻害率が上昇せず、基質濃度比 20%以下で呼吸阻害率が負の値となり、呼吸促進作用を示した。この作用のメカニズムは不明である。

以上の結果から、基質濃度を操作した場合、酸素消費率のリアルタイム制御性が得られないことや、微生物膜活性が低いと、基質濃度を低減して酸素消費率を低下させても、検出感度が向上しないといった問題点があることから、基質濃度を微生物膜活性の制御パラメータとして用いることは困難であることが分かった。

表 4. 実験シーケンスと酸素消費率およびアセトン EC_{10} の推移

実験シーケンス			酸素消費率 (%)	アセトン EC_{10} (v/v%)
Phase	基質濃度比(%)	保持時間		
1	100	1d	100.0	0.55
2	30	1h	91.7	0.48
3	30	12h	88.9	0.33
4	100	3d	98.6	0.43
5	100	6d	100.0	0.73

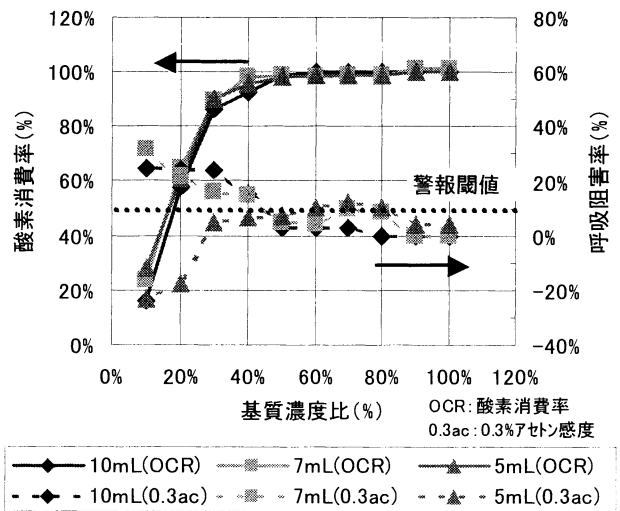


図 10. 基質濃度と酸素消費率および 0.3v/v%アセトン感度との関係

4-2. 運転温度による活性制御手法の検討

本節では、運転温度を操作した時の酸素消費率の挙動（応答時間、可逆性）と検出感度との関係について説明する。なお、*Ns*の培養至適温度は30℃であることから、至適温度よりも高温側と低温側の2条件について検討した。

4-2-1. 高温側（30～46℃）の場合

実験方法

微生物膜活性の初期値を3条件（5, 7, 10mL膜）設定し、センサ3個を並行運転して、運転温度を30℃から操作した。温度条件は34, 38, 42, 46℃の4条件とし、各条件とも昇温前、昇温2時間後にアセトン感度試験を行った。

実験結果および考察

図11に各温度条件での酸素消費率と0.3v/v%アセトン感度試験結果を示す。酸素消費率については、30～42℃では、微生物膜活性の低い5mL膜以外は酸素消費率を低下させることができなかった。また、46℃になると、5, 7mL膜において急激に酸素消費率が低下してしまったのに対し、微生物膜活性の高い10mL膜ではわずかな低下しか見られなかった。

検出感度については、30～42℃では、微生物膜の初期活性の高低に関わらず呼吸阻害率が低下する傾向が見られた。これは、上記温度範囲では、微生物膜内の菌数が減少して微生物膜活性が低下する作用と、菌体内の基質酸化酵素の活性上昇により微生物膜活性が上昇する作用が拮抗しており、後者の方が化学反応であるため効果が早く現れるものと考えられる。また、46℃になると呼吸阻害率が上昇したが、これは前者の作用の方が急激に大きくなり、微生物膜活性が短時間のうちに低下するためと考えられる。

以上の結果から、至適温度よりも高温側では、短時間での酸素消費率の制御および検出感度の向上は困難であることがわかった。

4-2-2. 低温側（5～30℃）の場合

実験方法

微生物膜活性の初期値を3条件（5, 7, 10mL膜）設定し、センサ3個を並行運転して、設定温度を1日1回30℃→5℃→30℃と操作し、5日間ヒートサイクル試験を行った。また、降温時の設定温度5, 10, 15, 20, 25, 30℃の時点でアセトン感度試験を行った。

実験結果および考察

微生物膜活性の初期値の高低に拘らず、酸素消費率は温度低下に追従して低下し、1回のヒートサイクル試験終了時には酸素消費率は元のレベルに復帰した。至適温度より低温側では温度操作に対して良好な応答性や可逆性を得られることが分かった。一例として、図12に7mL膜ヒートサイクル試験時の酸素消費率の推移を示す。この場合、日を経過するごとに微生物膜活性が上昇していたことから、酸素消費率の温度特性曲線は低温側にシフトし、酸素消費率90%時の温度は25→12℃へと低下した。

図13に7mL膜ヒートサイクル試験時の0.3v/v%アセトン感度の推移を示す。30℃での検出感度は、微生物膜活性の高低により呼吸阻害率0～50%の範囲で変動し、変動係数は110%であった。温度低下と共に呼吸阻害率は急激に上昇し、20℃以下になると微生物膜活性の高低に拘らず、呼吸阻害率50%以上となり、警報閾値をはるかに超える感度を示した。また、20℃での検出感度の変動係数は15%であり、30℃の場合と比較して大幅に低減した。以上の結果から、至適温度よりも低温側で運転温度を操作することにより、微生物膜活性のリアルタイム制御が可能であり、検出感度の大幅な向上と安定化を達成することが可能であることが分かった。

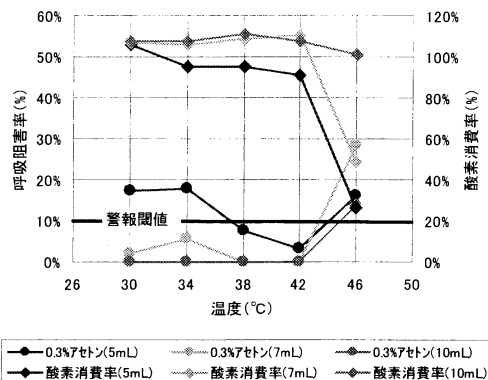


図11. 各条件での酸素消費率と0.3v/v%アセトン感度

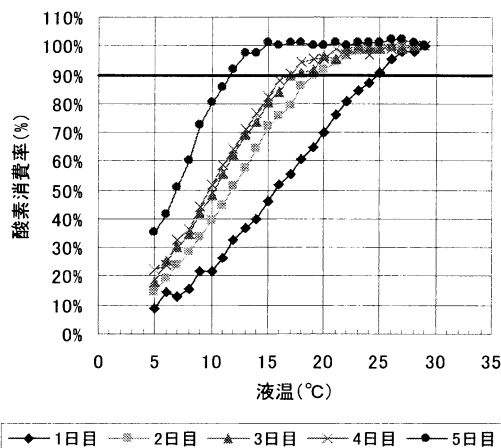


図12. ヒートサイクル試験時の酸素消費率の推移

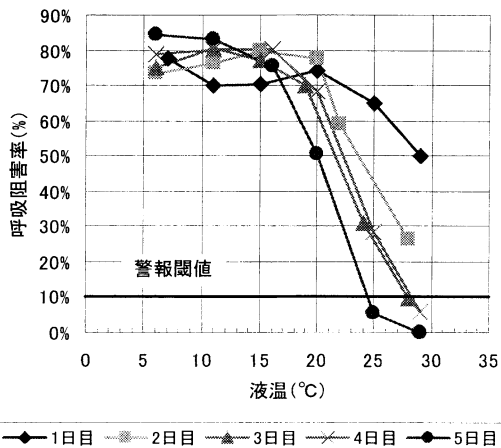


図13. ヒートサイクル試験時のアセトン感度の推移

4-3. 活性制御装置の長期連続運転試験

本節では、 N_s の培養至適温度よりも低温領域で運転温度を操作し、微生物膜活性のリアルタイム制御を可能とした活性制御装置を試作し、長期連続運転試験を行い、従来の毒物センサとの性能比較を行った結果を説明する。

4-3-1. 微生物膜活性のリアルタイム制御法

図14に活性制御装置の制御モデルを示す。酸素消費率のフィードバック制御方法は以下の通りである。酸素消費率の制御目標範囲 (ex. $95 \pm 3\%$) を設定し、酸素消費率が制御下限値を超えた場合は、現在の設定温度 T ($^{\circ}\text{C}$) に制御量 ΔT (ex. 1°C) を加算し、以後時間 Δt (分) が経過する毎にその時の設定温度に ΔT を加算して行く。但し、設定温度が制御上限温度 (ex. 30°C) に達している場合は加算を行わない。酸素消費率が制御上限値を超えた場合は、現在の設定温度 T から制御量 ΔT を減算し、以後時間 Δt が経過する毎にその時の設定温度から ΔT を減算して行く。但し、設定温度が制御下限温度 (ex. 5°C) に達している場合は減算を行わない。

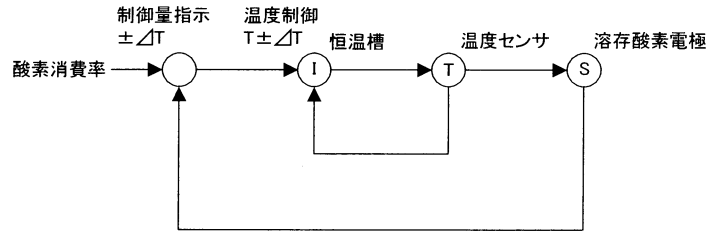


図14. 酸素消費率のフィードバック制御モデル

図15に活性制御適用時(制御目標範囲 $95 \pm 3\%$) のセンサ挙動例を示す。感度試験を行う場合、(i)のように活性制御を一時停止し、設定温度を固定した。これは、活性制御状態で感度試験を行うと、酸素消費率が低下して制御下限値を超えた時に設定温度が上昇し、呼吸阻害率が変動してしまうためである。(ii)で活性制御を再開したところ、酸素消費率が制御目標内に収束するように設定温度が上昇/下降し、フィードバック制御の有効性を確認することができた。

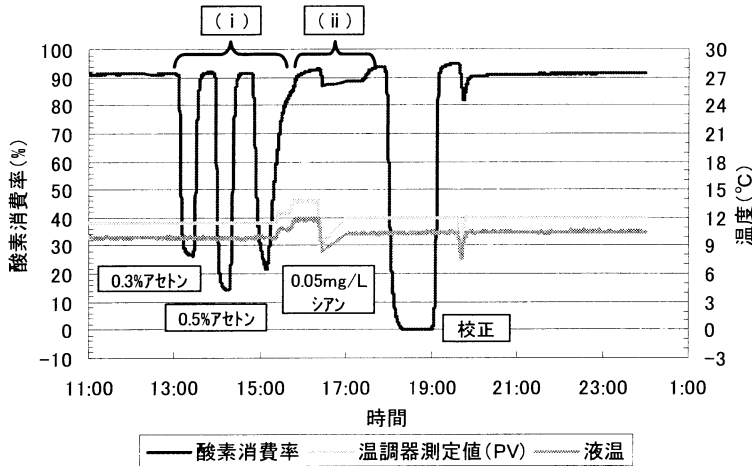


図15. 活性制御適用時のセンサ挙動例

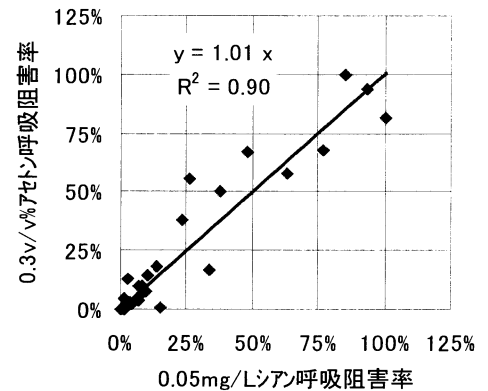


図16. シアン感度とアセトン感度との相関

4-3-2. 長期連続運転試験

酸素消費率の制御目標範囲を $95 \pm 3\%$ とし、微生物膜は 10mL 膜を使用し、脱塩素水道水を試料水として 3ヶ月間連続運転試験を実施した。図16にシアン感度とアセトン感度との相関を示す。毒物センサの検出感度の目標仕様である 0.05mg/L シアンと、0.3v/v%アセトンとの相関係数は 0.90 であり、良い相関を示したことから、感度試験が微生物膜活性の連続性に悪影響を及ぼさないように、アセトンを擬似毒物として週2回の頻度で感度試験を行った。

図17に3ヶ月連続運転中の設定温度および酸素消費率の推移を示す。設定温度は $12 \sim 30^{\circ}\text{C}$ の範囲で変動し、酸素消費率は制御目標範囲内で推移した。

図18に3ヶ月連続運転中の設定温度およびアセトン感度の推移を示す。おおよその期間、呼吸阻害率は約 $50 \sim 60\%$ の範囲で安定していたが、一時期、微生物膜活性が低下したことにより、設定温度が 30°C に上昇し、0.3v/v%アセトンの呼吸阻害率は約 20% に低下した。これは、図13に示

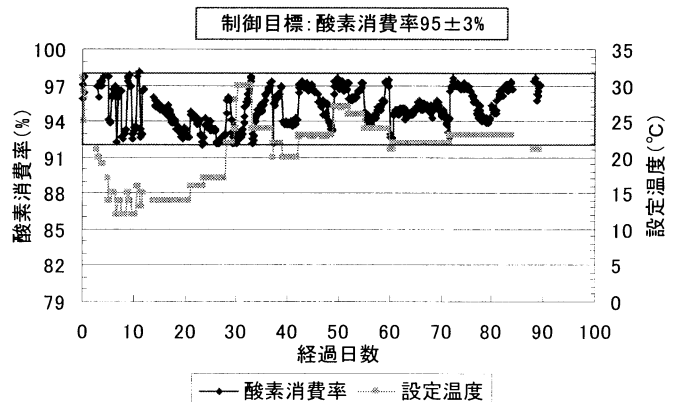


図17. 3ヶ月連続運転中の設定温度および酸素消費率の推移

すような検出感度の温度特性によるものである。表5に活性制御の有無に対する感度比較を示す。活性制御非適用の場合については2-2節の結果を用いた。活性制御を適用した場合、0.3v/v%アセトンの平均感度は呼吸阻害率 53.5%であり、従来の約10倍（警報閾値の約5倍）に感度を向上させることができた。また、変動係数は15.9%であり、感度変動を従来の約1/16に低減することができた。

表5. 活性制御の有無に対する感度比較

0.3v/v% アセトン	活性制御	
	あり	なし
平均感度	53.5%	5.6%
変動係数	15.9%	264.6%

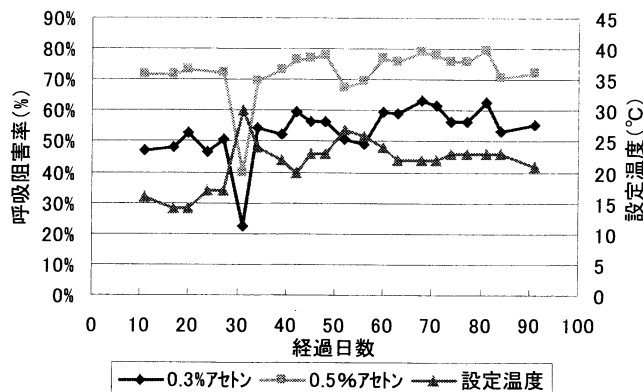


図18. 3ヶ月連続運転中の設定温度およびアセトン感度の推移

以上の結果から、30°C以下で運転温度を操作し、酸素消費率のフィードバック制御を行うことにより、従来の約10倍（警報閾値の約5倍）の検出感度を3ヶ月間維持することが可能となり、検出感度の目標仕様（0.05mg/Lシアン感度を警報閾値レベルで1ヶ月間維持すること）を大幅に超える性能向上を達成した。

5. まとめ

(1) 微生物膜の相対活性指標の考案

「酸素消費率」および「活性値」を微生物膜の相対活性指標として用いることにより、微生物膜活性の変動による検出感度の変動を正確に把握することが可能となった。また、試験日時、供試物質、微生物膜等が異なる条件でも正確な感度比較が可能となった。

(2) 微生物膜活性のリアルタイム制御による検出感度向上および安定化

アンモニア酸化細菌の培養至適温度よりも低温領域でセンサ運転温度を操作し、酸素消費率のフィードバック制御を行うことにより、検出感度を従来の約10倍、目標仕様の5倍相当に向上させ、3ヶ月間維持することが可能となった。

6. 今後の展開

(1) 硝化細菌バイオセンサの複合化

有害物質の検出可能範囲の拡張や、下水高度処理の硝化工程障害監視への対応のため、2種の硝化細菌バイオセンサの複合化について検討を行う。また、亜硝酸酸化細菌バイオセンサについて、活性制御の適用検討を行う。

(2) 毒物センサの下水道施設への適用

下水道施設への悪質排水流入による生物処理阻害を防止するため、毒物センサによる流入水監視および異常水回避プラント制御法について検討を行う。

7. 参考文献

- 1) 田中宏明：新しい水質事故対策技術，平成13年度土木研究所講演会講演集，(2002)
- 2) 田中良春，田中宏明：硝化細菌を用いたバイオセンサによるバイオアッセイ技術の開発，用水と排水，40(4)，pp.306-309 (1998)
- 3) Y. Tanaka, K. Taguchi, Y. Okayasu and H. Tanaka: A New Biomonitoring System with Biosensor Using Nitrifying Bacteria for Rivers, Preprints of IWA 2nd World Water Congress, pp.269 (2001)
- 4) 乾貴誌，田中良春，岡安祐司，田中宏明：硝化細菌バイオセンサを用いた流入下水水質監視装置の開発，EICA学会誌，Vol.7 No.2，pp.183-186，(2002)
- 5) T. Inui, Y. Tanaka, Y. Okayasu and H. Tanaka: Application of Toxicity Monitor Using Nitrifying Bacteria Biosensor to Sewerage Systems, Water Science & Technology, Vol.45 No.4-5, pp.271-278 (2002)

(受付 2004 . 5 . 2)

(受理 2004 . 6 . 18)