

水道水の微生物計数に関する実験的検討

Experimental Considerations for Measurement of Microbe Colony in Tap Water

石川正人, 千葉和良, 長田 洋, 千葉 茂樹,
関 享士郎, 中村 誠*, 佐藤元春*

Masato ISHIKAWA, Kazuyoshi CHIBA, Hiroshi OSADA, Shigeki CHIBA,
Kyoshiro SEKI, Makoto NAKAMURA* and Motoharu SATO*

岩手大学, *サンデン株式会社

Iwate University, *SANDEN CORPORATION

キーワード: 微生物 (microbe), 水道水 (tap water), 平板電極 (plane electrode),
電気計測 (electrical measurement), インピーダンス (impedance)

連絡先: 〒020-8551 岩手県盛岡市上田 4-3-5 岩手大学工学部電気電子工学科
電子システム工学講座

関 享士郎, Tel.: 019(621)6380, Fax.: 019(621)6380, E-mail: seki@iwate-u.ac.jp

1. 緒 言

近年, 経済構造の高度化, 社会構造の成熟化に伴い衛生面における関心が高まっており, 食品産業分野も危害分析重要管理点ハザップ (HACCP: Hazard Analysis Critical Control Point) 等の導入により, 品質を数値データ等で保証しなければならない段階に移行しつつある^{(1), (2)}.

食品の製造・加工現場では, 製造装置等の洗浄具合の判断指針として, 洗浄後に残留した一般細菌のような微生物数の計測が行われており, これらの作業は大企業のみ

ならず, すべての食品製造・加工業者に課せられている. 微生物の計数法には, 寒天培地による平板計測法, 光度計やネフェロメーター等の光学的な方法, 直接顕微鏡的測定法, クールター・カウンター, 電気伝導度計測等があるが, 計測時間や感度, およびランニングコスト等に限界があり, 広く普及しているとは言い難い^{(3), (4)}.

本研究は, それらの動きに対応するものであり, 飲料水 (水道水) 中における微生物 (一般細菌) の計数を, リアルタイムで, よりローコストで行うことを目的とする.

2. 基礎特性

水道水のように pH が 7 前後の溶液中では，微生物（一般細菌）は一般に負の電荷を有するため，溶液中の微生物数が異なるとその電気的特性が変化する^{(3)~(5)}．そこで，Fig. 1 に示す 1 対の平板電極を用いた試料溶液の測定装置を構成した．

試料となる微生物数の異なる水道水を，PVC 製セル内に設置された平板電極間に挿入し，電極間の電気的特性を LCR メータ（HP-4284A）により計測した．電極には腐食や酸化などに強い不溶性が求められる．本装置では優れた耐久性・安定性をもつ白金をコーティングしたチタン平板を使用した．なお，測定時の S/N 比等から，電極の大きさは，幅：30 mm，高さ：50 mm，厚さ：1 mm（試料溶液と電極の接触面積は $40 \times 30 \text{ mm}^2$ ，Fig. 2 参照）とし，電極間距離は 10 mm とした．両平板電極間の距離は，ポリカーボネイト製ボルト/ナットで一定となるよう固定した．なお，試料溶液を測定の際は，平板電極をあらかじめ超音波洗浄器にて洗浄し，表面に付着している不要な物質を取り除き使用した．また，比較用の微生物数の計数はペトリフィルム（培地）を用いて行われ，48 時間の培養後に計数した．

水の導伝率や誘電率は水温により変化する．Fig. 3 は，20 colony/ml の微生物が混入した水道水における抵抗および容量の温度特性を示す．同図より，資料の抵抗および容量は温度に対して直線的に変化することがわかる．変化率は，それぞれ $-19.1 \Omega/$ および 0.94 nF/ であった．これは 20 の水温におけるそれぞれの値の 2.7% および

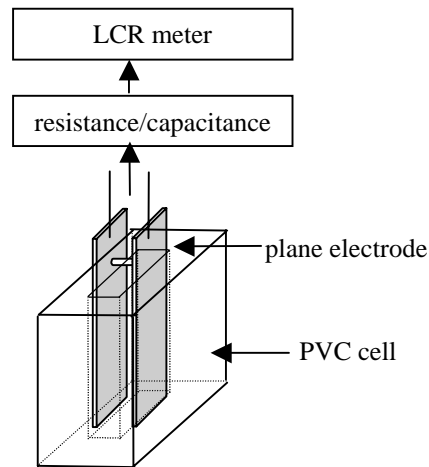


Fig. 1 Construction of microbe colony measurement system using plane electrode.

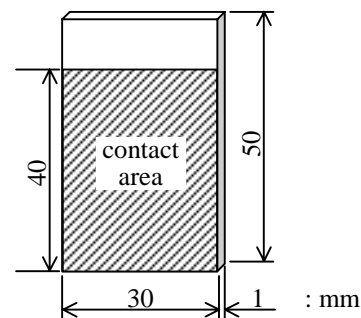


Fig. 2 Shape of plane electrode.

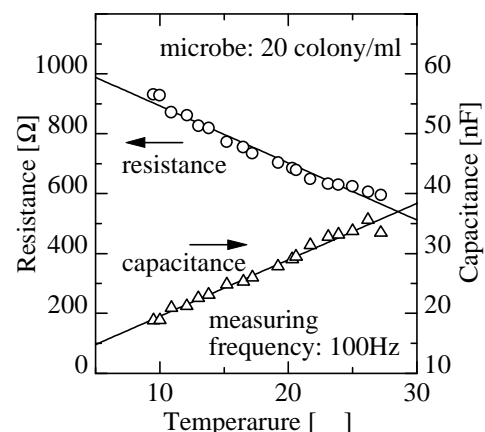


Fig. 3 Temperature dependence of resistance and capacitance of sample solution including microbe of 20 colony/ml.

3.2%である．以上から，試験中はを水温を 19 ± 0.5 以内に保ち測定を行った．

Fig. 4 は，微生物数が $12 \sim 5012$ colony/ml の試料の抵抗を測定周波数をパラメータとして示す．なお，微生物は初期状態 (12 colony/ml) より，自然に繁殖させた．同図より，抵抗は微生物数の増加(指数関数的)に伴って減少することがわかる．微生物数が 1000 colony/ml 程度までは比較的大きな変化を示すが，それ以上では緩やかな変化となった．また，試料の抵抗は，測定周波数による違いはほとんど観測されなかった．

Fig. 5 は，Fig. 4 と同様に微生物数に対する容量の変化特性を示す．同図より，試料の容量は，微生物数が増加すると一様に増加する傾向を示し，微生物数が少ないほどより大きな変化率を示すことがわかる．また，容量は測定周波数に高い依存性を示し，周波数が低いほど大きな値を示すが，微生物数に対する変化率は同程度であった．

両図より，対向平板電極を用いた微生物計数装置では， 100 colony/ml 程度の感度が得られることが確認できたが，このような試料溶液（水道水）中の電気的特性の変化は，微生物にのみ由来するものではなく，それ以外の影響（Cl イオン等の経時変化）も考えられる．Fig. 6 は，水道より取り出した直後の少量の微生物（ 10 colony/ml 程度）を含む水道水の，抵抗と各種イオン（Cl⁻，Fe²⁺，NH₄⁺）濃度の経時時変化を，微生物数の関数として示す．なお，抵抗の測定周波数は 100 Hz である．同図より，試料の抵抗と NH₄⁺を除く各イオン濃度は，共に微生物数の増加（時間の経過）に対して減少する傾向を示すが，抵抗が測定範囲の

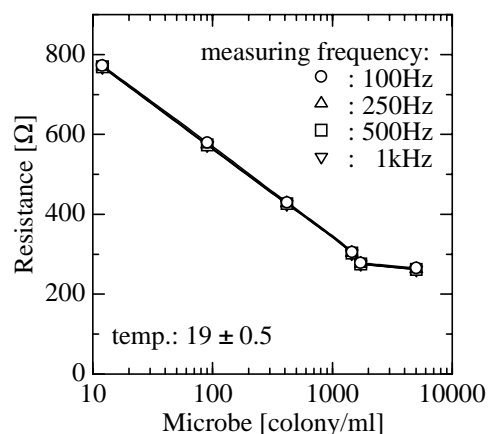


Fig. 4 Resistance vs. microbe characteristics with various frequency.

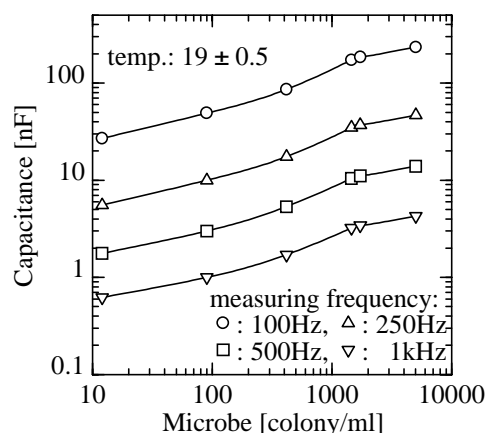


Fig. 5 Capacitance vs. microbe characteristics with various frequency.

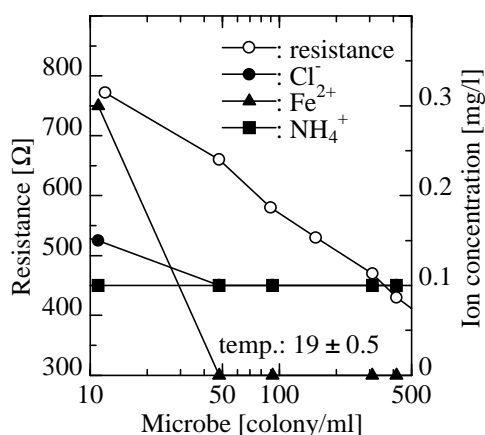


Fig. 6 Resistance and ion concentration vs. microbe characteristics.

全域にわたって一様に減少するのに対して，Cl⁻およびFe²⁺イオンは50 colony/ml以上でほとんど消失することがわかる．したがって，観測された抵抗の変化と各イオン濃度との相関は低いと思われる．

Fig. 7 は，微生物が繁殖しにくい条件下（5℃で低温保存）での試料の抵抗および容量の経時変化を示す．微生物数はすべての測定点で20 colony/mlであった．同図から，100時間程度放置した試料であっても抵抗および容量の値はほとんど変化しないことがわかる．

これらの結果から，本計測システムでとらえられる各電気量の変化は，試料中の微生物数に大きく依存しており，微生物を良好に計数できるシステムであると考えられる．

3．微少定電流による計測

前述の LCR メータを用いた計測システムでは，試料の電気的特性の計測時には最大で数 mA の電流が試料を流れる．一般に，試料の物理量を計測する際には，計測される試料に何らかの影響を与えることはできるだけ避けることが望ましい．そこで，Fig. 8 に示す，FET を使用した高抵抗入力型の定電流計測システムを検討した．

同図に示すように，パルスジェネレータの出力電圧（正負両方向パルス）を次段の電圧/電流変換回路によりごく小さい定電流へと変換し，対向平板電極により試料に印加する．印加された微少電流により，試料は緩やかに充放電を繰り返す．その時の平板電極間の電位差を高抵抗入力インピーダンスを有する FET で計測することで，試

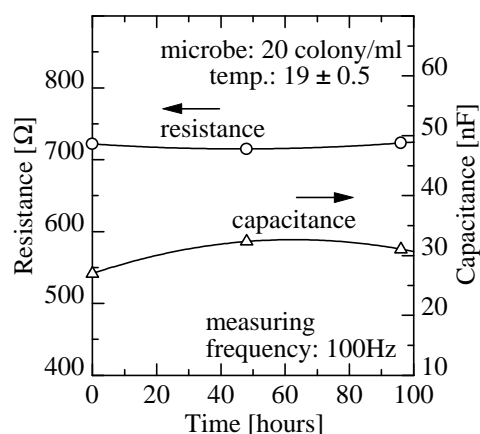


Fig. 7 Time progress characteristics for resistance and capacitance of sample.

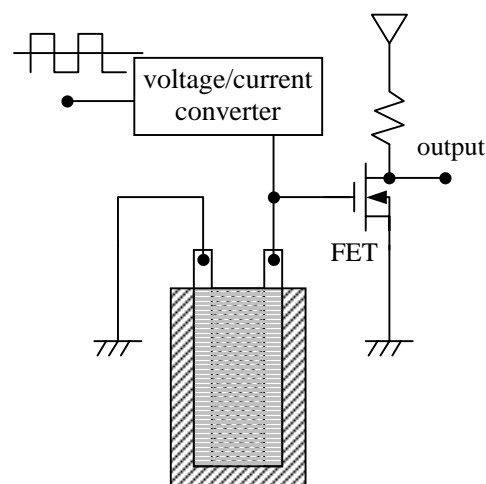


Fig. 8 Constructions of constant current measurement system with FET.

料への影響を最小限にして，その電気的特性を測定するものである．

Fig. 9 は，微生物数が20～430 colony/mlの試料に対して，約8 μAのピーク電流を有する0.22 Hzの両方向パルス状電流を印加した場合の出力電圧特性を示す．同図より，微生物数が異なる試料では，出力の振幅が変化することがわかる．

Fig. 10 は，微生物数対出力ピーク電圧特性を示す．同図より，試料中の微生物数が

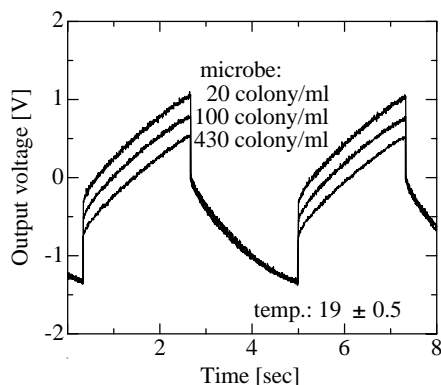


Fig. 9 Transient response of the output for sample solutions including microbe.

多くなるとピーク電圧が小さくなることがわかる。また、微生物数が少ないほどその変化率は大きく、数 colony/ml 程度の試料に対して良好な感度を有していることがわかる。

4. 結 言

以上、対向平板電極を用いた微生物計数装置の構成および実験結果を報告した。対向平板電極を用いて、LCR メータにより微生物数の異なる試料の実効抵抗および静電容量を測定したところ、微生物数の増加にともなって、それぞれ減少および増加する傾向を示すことを確認した。また、FET を使用した高抵抗入力型の定電流計測装置を構成して計測したところ、微生物数に応じたピーク電圧を得ることができた。本装置は簡単な構造であり、ランニングコストも比較的安く、またメンテナンスも容易であるという特徴を有している。

今後は、シミュレーションによる動作原理の検討、ならびに微生物が少ない範囲で

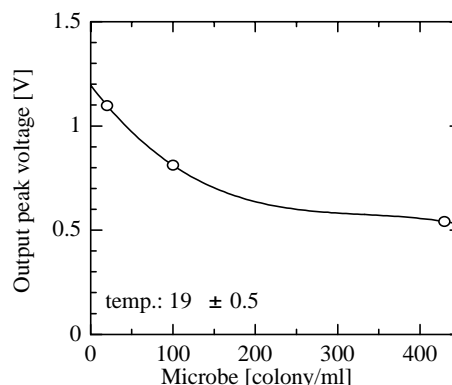


Fig. 10 Output peak voltage vs. microbe characteristics.

感度を上げるために電極の形状や電極間距離などの改良を行っていく予定である。

参考文献

- (1) 動物性食品の HACCP 研究班編集，HACCP：衛生管理計画の作成と実践，中央法規出版，1997
- (2) 日本食品保全研究会編集：HACCP の基礎と実際，中央法規出版，1997
- (3) R. Y. スタニエ，E. A. エーデルバーグ，J. L. イングラム：微生物学，倍風館，1978
- (4) 新家 龍，今中忠行：微生物工学入門，朝倉書店，1991
- (5) 森崎久雄，服部黎子：界面と微生物，学会出版センター，1986