

電気的手法による飲料水評価システム

Drinking Water Evaluation System by Its Electric Property

○ 湊 豊, 岩崎大輔, 千葉茂樹, 長田 洋, 田山典男

○ Yutaka Minato, Daisuke Iwasaki, Shigeki Chiba, Hiroshi Osada, and Norio Tayama

岩手大学

Iwate University

キーワード: 微生物 (microorganism), 寒天培養基 (agar culture medium), 危害分析重要管理点 (HACCP: Hazard Analysis Critical Control Points), 過渡応答 (transient response), インピーダンス (impedance)

連絡先: 〒020-8551 盛岡市上田 4-3-5 岩手大学大学院 工学研究科 電気電子工学専攻 長田研究室
湊 豊, Tel. & Fax.: 019-621-6980, E-mail: t2302039@iwate-u.ac.jp

1. 序論

近年, 消費者の衛生面における関心が高まっており, 大手食品メーカーでは HACCP 等の導入により, 品質を数値データ等で客観的に保証しなければならない段階に移行しつつある¹⁾. 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難点があり, 広く普及しているとは言い難い²⁾.

本報告は, このような食品の品質にかかわる一般細菌の計数を迅速かつローコストに行える微生物計測システムの構成, およびその応答特性に関するものである.

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) の表面は通常負に帯電している. 一方, 水溶液の pH が小さくなると微生物の表面は逆に正に帯電する. Fig. 1 は仮に微生物の表面がカルボキシル基 (COOH) とアミノ基 (NH₂) がおのこの一つの場合, pH の変化によって微生物の表面の荷電状態がどう変化するか模式的に示したものである. このように微生物表面

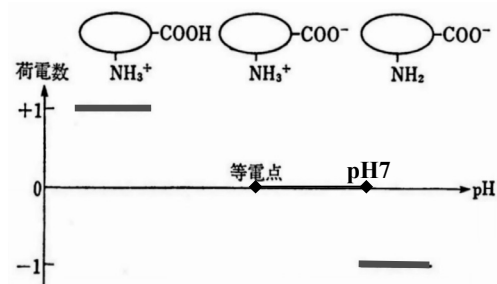


Fig. 1 微生物表面の荷電状態

の荷電は、カルボキシル基、あるいはアミノ基などの解離基の数、および解離度によって微生物の荷電状態は決まる³⁾。

従って、微生物数が異なる溶液はその電気的特性が変化すると考えられ、試料溶液のインピーダンス等の電気的特性を計測することにより微生物数を推定できる。そこで、Fig. 2のように資料(微生物数の異なる水道水)を、PVC製セル内に設置された対向平板電極間に挿入し、電極間のインピーダンス(静電容量および実効抵抗)をLCRメータ(HP-4284A)により計測した^{4), 5)}。

セル内に設置する対向平板電極には腐食や酸化などに対する不溶性が求められるため、優れた耐久性・安定性を有する白金をコーティングしたチタン平板を使用した。また、電極形状は、測定時のS/N比等を考慮し、幅: 30 mm, 高さ: 50 mm, 厚さ: 1 mmの平板とし(試料溶液と電極の接触面積は40×30 mm²)、電極間距離は10 mmとした。試料溶液測定時は、表面に付着している不要な物質を取り除くため、両平板電極およびセルをあらかじめ超音波洗浄器にて良く洗浄した。なお、各試料中の微生物コロニー数はペトリフィルム(培地)を用いて48時間の培養後に計数した。また、水の導電率や誘電率は水温により変化するため、試料の水温変化は±1℃以内に保ち測定した。

Fig. 3は、微生物数が12~5012 colony/mlの試料の抵抗を各測定周波数のパラメータとして示す。なお、微生物は水道水採取直後(12 colony/ml)より自然に繁殖させた。同図より、試料の抵抗は微生物数の増加(指数関数的)に伴って減少し、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ることがわかる。また、測定周波数による試料抵抗の違いはほとんど観測されなかった。

Fig. 4は、Fig. 3と同様の微生物数に対する試料の容量の変化を示す。同図より、試

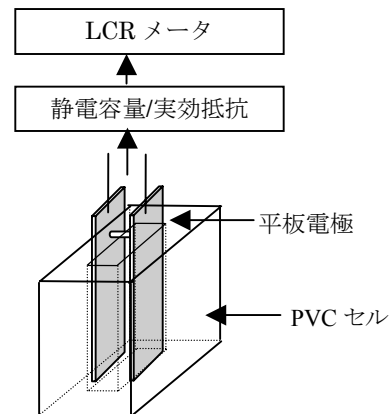


Fig. 2 LCRメータを用いた測定

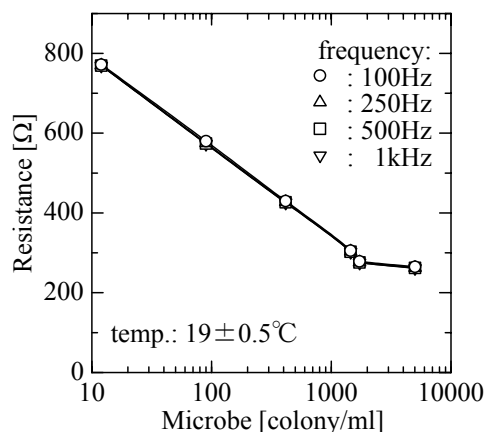


Fig. 3 抵抗対微生物数特性

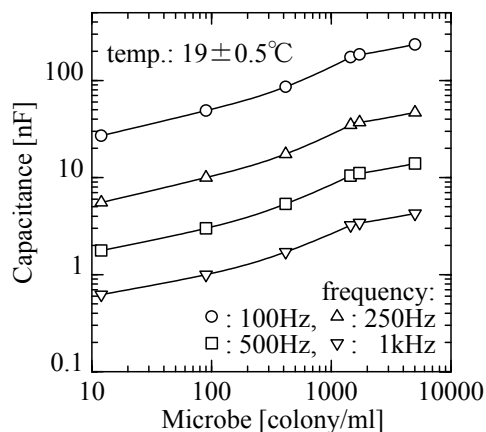


Fig. 4 容量対微生物数特性

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。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、試料のインピーダンス特性から微生物数を計測する方法は、適当なシステムであ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. 5 は、採取直後からの水道水の抵抗および各種イオン（Cl⁻, Fe²⁺, NH₄⁺）濃度の経時変化を微生物数の関数として示す。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⁺イオンは微生物数が 50 colony/ml 以上では、消失およびほぼ変化しない状態となることからわかる。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. 6 は、微生物が繁殖しにくい条件下（5°C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. 充電電流計測型微生物計数装置

生体の細胞膜は、絶縁性の高い脂肪でサンドイッチ状に二重に覆われて脂質二重層を形成し、細胞膜内は導電性の良い体液で満たされていることから一種のコンデンサと見なせる。微生物を含む水道水の等価回路

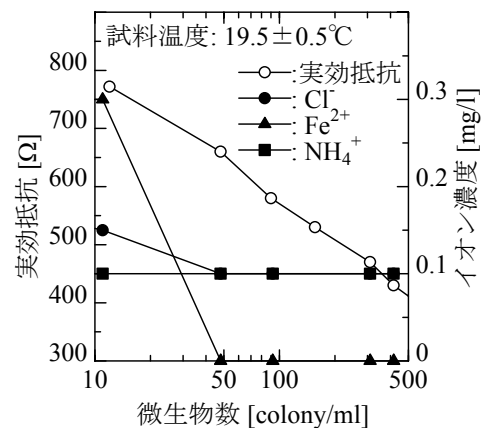


Fig. 5 微生物数変化（経時変化）に伴う各種イオン濃度変化特性

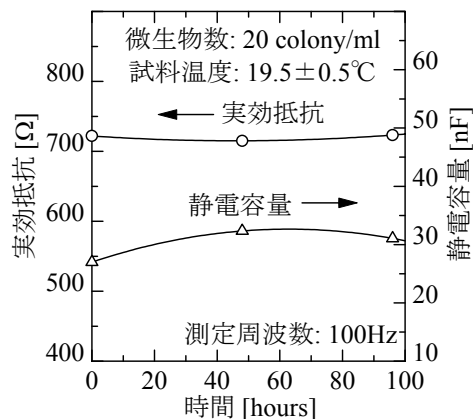


Fig. 6 微生物数保持による放置特性

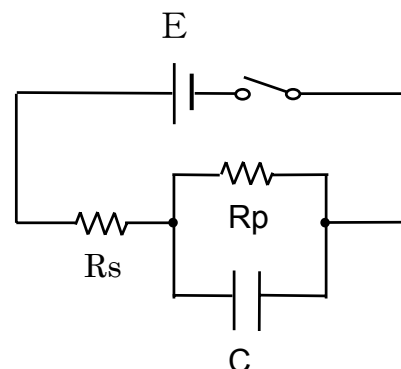


Fig. 7 充電時の等価回路

を、容量 C に並列に抵抗 R_p を、直列に抵抗 R_s を付加した回路 (Fig. 7) とすると、定電圧 E を印加した場合に流れる電流 I は下式とな

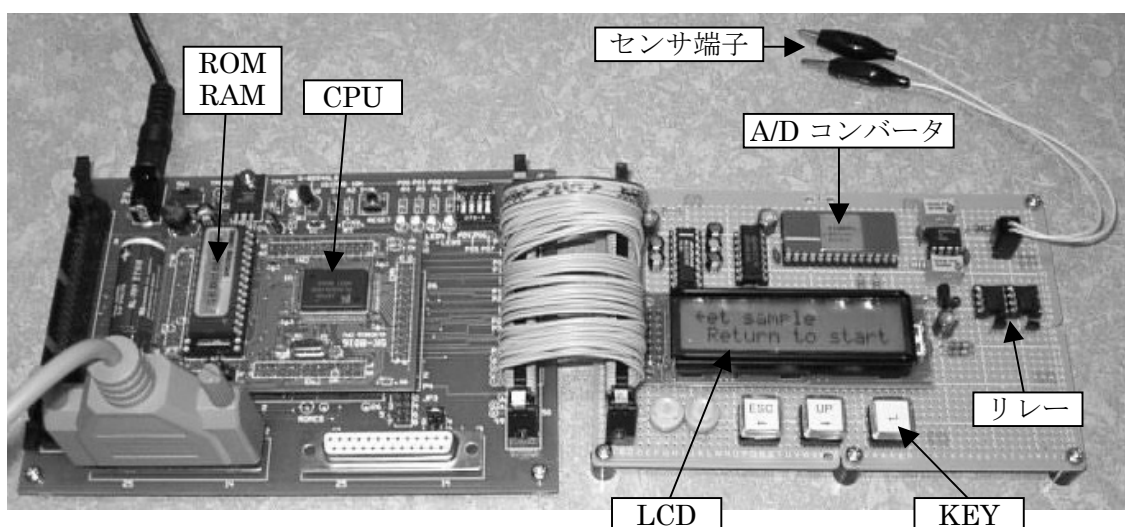


Fig. 8 充電電流計測型微生物計数装置

る.

$$I = \frac{E}{R_s} \left\{ 1 - \frac{R_p}{R_p + R_s} \left(1 - e^{-\frac{R_p + R_s}{CR_s} t} \right) \right\} \quad (1)$$

上式より、定電圧印加直後 ($t=0$) は $I=E/R_s$ であり、 I は R_s によって決定される。電圧印加直後の I と R_s および微生物数 M の関係は以下のようなになる。

- ・微生物数 M が増えると試料溶液の抵抗値 R_s が減少する
- ・ R_s の減少により試料に流れる電流 I が増加する
- ・従って、定電圧印加直後の電流 I を求めることにより微生物数 M を測定できる

この動作原理に基づいて充電電流計測型微生物計数装置を構成した⁶⁾。

Fig. 8 に、本装置の外形を示す。同図左側は演算部であり、CPU、RAM、およびプログラム格納用ROM等によって構成される。また、同図右側は計測・表示部であり、A/Dコンバータ、リレー、LCDディスプレイ、KEYスイッチ等からなり、対向平板電極をセンサとして使用し、試料両端に定電圧を印加、あるいは短絡できる回路を構成することで、充放電時に試料を流れる電流を計測できる。本装置はLCRメータ等比べて非

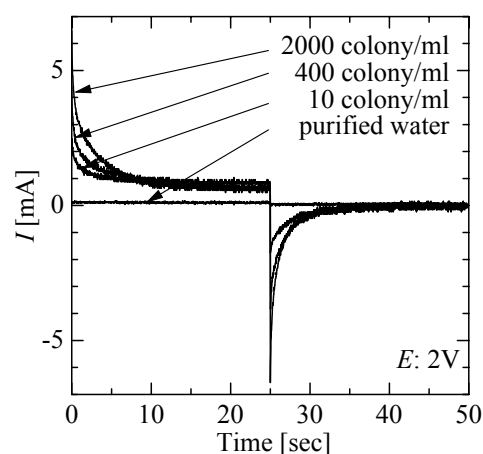


Fig. 9 試料を流れる電流の過渡応答特性

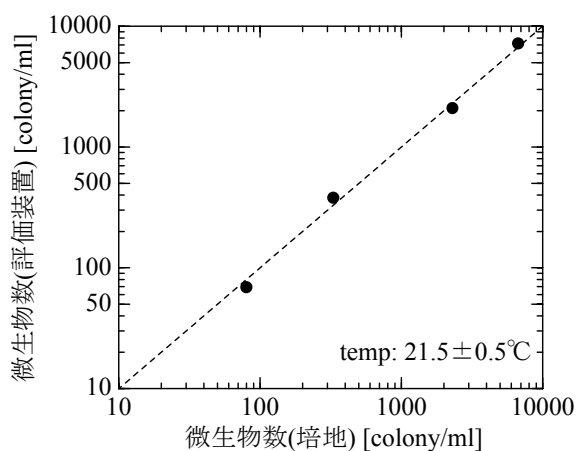


Fig. 10 本システムで測定した値の信頼性の評価

常にシンプルな構成であり、小型化や低コスト化が容易である。

Fig. 9 に本装置で測定時に試料に流れる電流の過渡応答特性を示す。なお、印加電圧は 2V とし、充放電時間は 25 秒とした。同図より、本装置を用いて、微生物数の異なる試料溶液を充放電時のピーク電流値により識別できることがわかる。

したがって、微生物数が既知である 2 種類以上の試料溶液のピーク電流値データをメモリに登録しておくことにより、それらから求め関数化した検量線を使用して試料の判定を行うことが可能である。

Fig. 10 は、微生物数の既知である 2 つの試料を基準溶液として登録し、未知の試料を測定した場合の特性を示す。同図より、培地を使用して計測した微生物数と、本システムを用いて計測した微生物数は、比較的良好に一致することがわかる。

4. 今後の展開

現時点において、微生物数の評価は、基準溶液との充放電時におけるピーク電流値の差を検出する方式を採用しているため、はじめに基準溶液のデータを測定しておく必要がある。このような方法は利便性に優れているとは言いがたいため、今後充放電電流の過渡現象における振る舞い等から、基準溶液データを必要としない計測法が期待される。

例えば、微生物を含む多くの細胞は、pH7.0 でおおよそ $-1 \sim -3 \text{ (mm/s} \cdot \text{V/cm)}^{-1}$ の範囲の電気泳動易動度を示す。試料溶液の pH を 7.0、電気泳動易動度を平均 $-2 \text{ (mm/s} \cdot \text{V/cm)}^{-1}$ とすると、本実験で印加した電界 (2 V/cm) と充電時間 (25 秒) から、充電時の試料溶液中の微生物の平均移動距離は約 50 μm であり電極間距離 (10 mm) の 0.5% 程度であると考えられる。そこで、このよ

うな微小な変化の電気的特性への影響が検出できれば基準溶液にとらわれない測定が可能と考えられることから、今後、検出方法を検討していく予定である。

5. まとめ

以上、電気的手法による飲料水評価システムに関して報告した。

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すると、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した。また、充電電流計測型微生物計数装置のような比較的簡単な装置構成によっても微生物数を良好に計測できることがわかった。

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) 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)
- 3) 森崎久雄, 服部黎子: 界面と微生物, 学会出版センター (1986)
- 4) 千葉和良, 他: 平板電極を用いた水道水の微生物計数に関する実験的検討, 計測自動制御学会東北支部第 194 回研究集会, [194-12] (2001.6.1)
- 5) 千葉和良, 他: アナログメータを用いた水道水の微生物計数に関する検討, 平成 13 年度電気関係学会東北支部連合大会, [1A7] (2001.8.21)
- 6) 湊 豊, 他: 電気的手法による飲料水評価システム, 平成 15 年度電気関係学会東北支部連合大会, [1E10] (2003.8.21)