

# 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

## Experimental Considerations for Measurement of Microbe Colony in Tap Water with Plane Electrode

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

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. 序論

近年, 社会構造の成熟化に伴い消費者の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サップ (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<sup>(1), (2)</sup>.

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<sup>(3), (4)</sup>.

本研究は, 水道水中における微生物 (一般細菌) を, リアルタイムに, ローコストで計測するシステムについて検討した.

### 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、微生物数が異なる溶液はその電気的特性が変化する<sup>(3)・(4)</sup>。従って、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。

Fig. 1 に対向平板電極および LCR メータを用いた微生物数測定装置を示す。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。

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、本装置では優れた耐久性・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。電極の形状は、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  $40 \times 30 \text{ mm}^2$ 、Fig. 2 参照）、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）。

試料溶液測定時は、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、表面に付着している不要な物質を取り除き使用した。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、水の導伝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 の試料の抵抗を測定周波数を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。

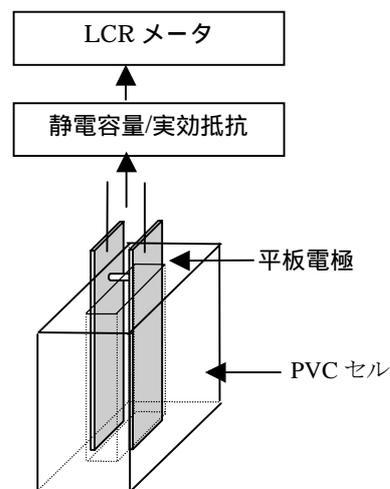


Fig.1 LCR メータを用いた測定システム

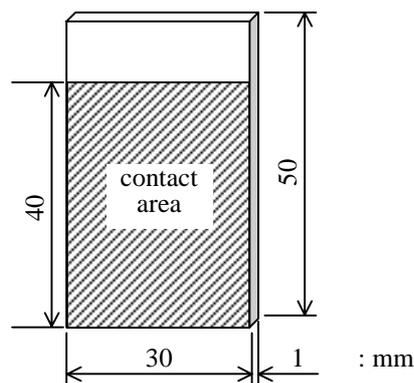


Fig. 2 電極の形状

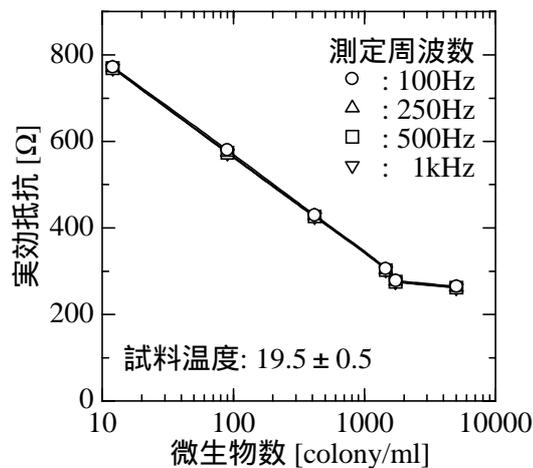


Fig. 3 実効抵抗 - 微生物数特性

Fig. 4 は, Fig. 3 と同様の微生物数に対する容量の変化を示す. 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. なお, 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.

同図より, 対向平板電極を用いた微生物計数装置では, 良好な感度を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( $\text{Cl}^-$ イオン等の経時変化)も考えられる.

Fig. 5 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( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{NH}_4^+$ )濃度の経時変化を, 微生物数の関数として示す. 微生物は水道水採取直後より自然に繁殖させた. 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  $\text{NH}_4^+$ 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,  $\text{Cl}^-$ および  $\text{Fe}^{2+}$ 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. 6 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 である. 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.

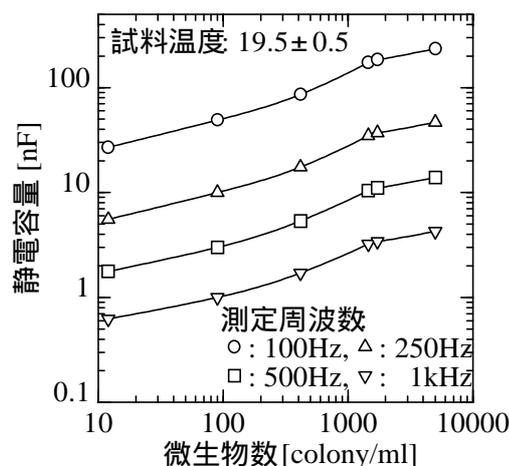


Fig. 4 微生物数 - 容量特性

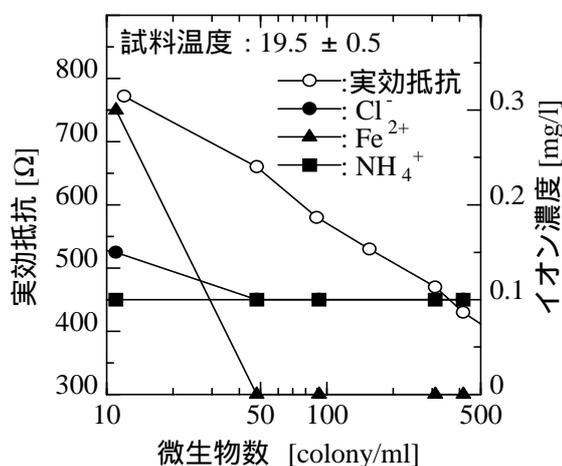


Fig. 5 微生物数変化(経時変化)に伴う各種イオン濃度変化特性

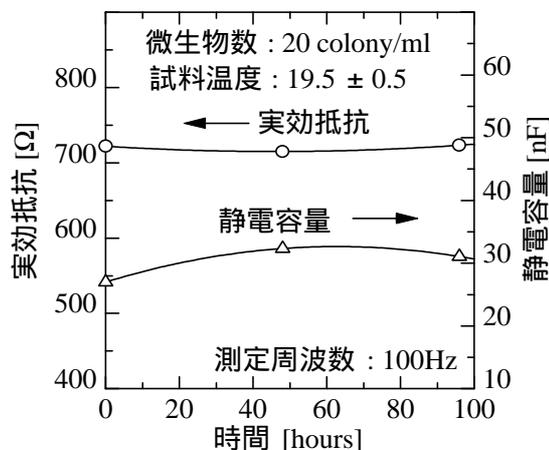


Fig. 6 微生物数保持による放置特性

### 3. アナログメータによる計測

微生物を含む水道水中に設置した対向平板電極に直流電圧を印加すると、水道水の抵抗や容量に応じたピーク電流が流れる。この電流のピーク値と微生物コロニー数が対応することに着目してアナログメータでコロニー数を計測する方法を検討した

Fig. 7 に示すように、微生物を含む水道水の等価回路を容量  $C$  に直列に抵抗  $R$  を付加した回路と仮定すると、定電圧  $E$  を印加した場合に流れる電流  $I$  は下式となる。

$$I = \frac{E}{R} e^{-\frac{1}{CR}t} \quad (1)$$

上式より、定電圧印加直後 ( $t=0$ ) は  $I=E/R$  であり、 $I$  は  $R$  によってのみ決定される。

電圧印加直後の  $I$  と  $R$  および微生物数  $M$  の関係は Fig. 8 に示すように考えることができる。すなわち、微生物数  $M$  が増えると試料溶液の抵抗値  $R$  が減少し（第 3 象限）、そのため試料に流れる電流  $I$  が変化する（第 2 象限）。従って、試料を流れる電流値  $I$  を求めることにより微生物数  $M$  を測定することができる（第 1 象限）。

Fig. 9 は、動作原理に基づいて構成したアナログ電流計による微生物測定システムの構成を示す。一对の平板電極を使用して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、充電時に試料を流れる電流をアナログ電流計を用いて計測できる。

Fig. 10 は、微生物数の異なる試料を電極間に挿入し、電圧 2V を印加したときのアナログ電流計により計測された電流の過渡応答特性を示す。同図より、電流計の指示  $I$  は電圧を印加してから約 1.3~1.6 秒後ピークに達し、その後指数関数的に減少することがわかる。

Fig. 11 は、Fig. 10 のピーク値を微生物コロニー数の関数として示す。同図より、微生物コロニー数の増加によって電流のピーク値が上

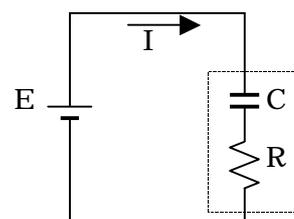


Fig. 7 微生物を含む水道水に定電圧を印加した場合の等価回路

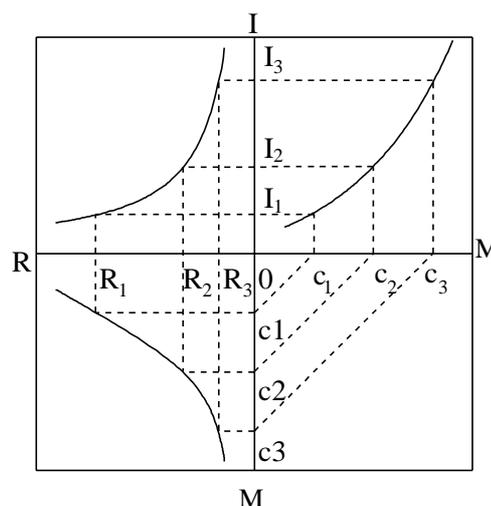


Fig. 8 電圧印加直後の電流  $I$ 、抵抗  $R$  および微生物数  $M$  の関係

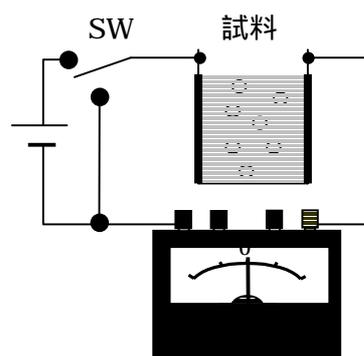


Fig. 9 アナログ電流計による微生物計測システム

昇する傾向を示すことがわかる。

このように、微生物コロニー数の違いは電流のピーク値、すなわち電流計の最大振れ角によって知ることができたため、ピークホールド機能を有したアナログ電流計を用いることにより

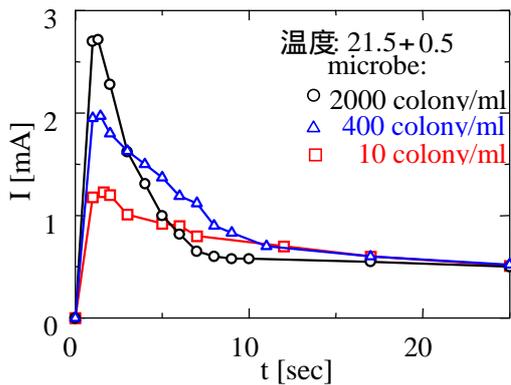


Fig. 10 アナログ電流計により計測される電流の過渡応答特性

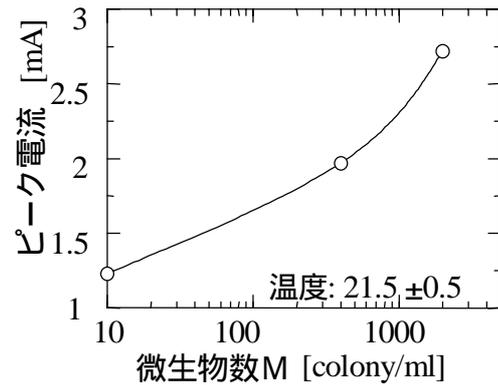


Fig. 11 微生物コロニー数 - ピーク電流特性

簡単な微生物計測システムを構成できる。

#### 4. 結論

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。

対向平板電極とアナログ電流計を用いて簡単な微生物計数装置を構成したところ, 微生物数に応じた電流ピークが得られることがわかった。

#### 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) 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)
- (6) 石川ほか: 計測自動制御学会東北支部第 191 回研究集会 [191-8] (2000)
- (7) 石川ほか: 応用物理学会東北支部第 55 回学術講演会 [8aB3] (2000)