

審査の結果の要旨

論文提出者氏名

吉田 信行

本論文は、近年、河川の水質汚濁の最も大きな要因となっている生活系排水の BOD (生物化学的酸素消費量) 測定が、安価に大量生産が可能な使い捨て素子を用いて、現場で迅速にできる小型 BOD 測定システムの開発に関するものであり、7章より構成されている。

第1章は緒論であり、本研究が行われた背景について述べ、及び本研究の目的と意義を明らかにしている。

第2章では、メディエーター型 BOD センサーを構築するために微生物のスクリーニングとメディエーターの選択を行っている。メディエーターとしてはジクロロフェノールインドフェノール (DCIP) を用いてグルコースとグルタミン酸の混合液に対する応答性を定電位法により比較した結果、下水処理場の活性汚泥から単離した L-GL3 株が最も高い応答を示したことを明らかにしている。また、L-GL3 株は、*Pseudomonas fluorescens* biovar V と同定されたと述べている。さらに、L-GL3 株と電子伝達が可能な数種類のメディエーターの中から、化学的安定性が高いフェリシアン化カリウムと分光学的特性に優れた DCIP を選択したと述べている。

第3章では、酸化還元色素を用いた BOD センサーシステムの開発を行っている。まず、酸化還元色素として DCIP を用い、一般的な排水の成分をもとに調製された人工排水に対する L-GL3 株の応答性をマイクロプレートリーダーにより調べ、反応開始約 20 分後の吸光度が人工排水の 5 日間法による BOD 値 (BOD_5 値) に対し高い相関性があることを確認している。次に、DCIP の最大吸収波長に近い 600 nm に中心波長を持つ発光ダイオードを光源とし、検出側にシリコンフォトダイオードを用いて小型 BOD センサーシステムの構築を行っている。光学的に透明で、しかも安価で汎用性の高いポリカーボネートにより 3 連の微生物固定化層と反応セルを積層した使い捨てチップを作製、微生物の固定化には、UV架橋型ゲル (ポリエチレングリコールプレポリマー) を使用し、DCIP の還元に伴う透過光の強度の変化が電圧として出力されるシステムを用いて実排水の BOD 測定を行っている。その結果 2 種の排水に対し、 BOD_5 値とセンサー値の間に良好な相関を得たが、作製した微生物固定化チップは長期保存安定性に乏しく、DCIP も化学的に不安定であり実用的に不十分だったと述べている。

第4章では、微生物の有機物代謝過程で還元されたメディエーターを定電位法により電極上で酸化し、電流値として測定する電気化学的方法による検討を行っている。電極チップとしては、安価に大量生産できる方法を考慮してプリント基板を用い、作用極と対極をエッチングにより基板上に形成した後、金メッキを施し、使い捨て型電極チップを作製している。また、微生物の固定化法は光硬化性樹脂 PVA-SbQ を用いた方法を試み、メディエーターとしては化学的に安定なフェリシアン化カリウムを用いたと述べている。3電極型の電気化学測定系で測定条件の設定を行い、その条件下で人工排水に対する応答性を見た結果、BOD 値 $15\sim 200\text{ mg L}^{-1}$ の範

囲で直線的な応答を得たことを明らかにしている。また、BOD センサーは広範囲の有機物に対する応答が要求されるため、14 種類の有機物(糖質類、アミノ酸類、有機酸類、アルコール類)により本センサーの応答性を調べている。その結果、本センサーは広範囲の有機物に対し応答性があると述べている。さらに、試料中の溶存酸素濃度が応答に与える影響を調べ、本センサーが溶存酸素濃度に依存しないことを明らかにしている。

第5章では、実用性を考慮したシステムの改良と実排水の BOD 測定を行っている。2 電極法を採用することにより、電極全体の使い捨てを可能にし、さらに、微生物は、より穏和な固定化法であるメンブランフィルターを用いる方法を試みている。次に、使い捨て型のセンサーチップを即時使用するための検討を行い、微生物を電極に固定化する前に曝気処理を試みた結果、固定化直後から高い応答が得られるようになることを明らかにした。また、ポリエステルフィルムで包装し、4℃、湿潤状態で保存した使い捨てチップの活性の半減期は約1ヶ月であることを明らかにしている。次に、食品工場、食堂、下水処理場の 3 系統の実排水について BOD 測定を行い、どの排水に対してもセンサー値と BOD₅ 値との間に良好な相関性を得ている。また、排水中に分解に時間のかかるデンプンが多く存在する食品工場由来の排水は、他の排水と比べ応答値が低くなることを明らかにした。本センサーは、高分子や難分解性物質の存在、或いは有機物成分の構成により出力が左右されるが、適切な採取場所の選択や様々な種類の排水の検量線に対応するデータベースを予め作製するなどの対応により予測値の精度を向上させることは可能であり、本センサーを実際の水質管理に十分応用できると述べている。

第6章では、1回使い捨て型チップを用いたシステムの信頼性や実用性の向上を目的とした検討を行っている。ポリエチレンテレフタレート基板上に量産性の高いスクリーン印刷法によりカーボン電極を形成し、反応セルと一体型の使い捨てチップを作製することによって、現場に持ち込む反応容器が不要になり、しかも使用済みのメディアエーターの環境中への排出を極力おさえることが可能になったと述べている。また、測定は現場測定を考慮して応答値が装置の振動の影響を受けにくいパルス電位印加法を採用し、さらに多点同時測定による測定時間の短縮と測定値の信頼性向上を図ったと述べている。実試料としては、発酵過程の汚泥コンポストからの抽出液を用い、6サンプルを同時測定できる携帯型システムによる BOD 測定を試みている。その結果、BOD₅ 値とセンサー値の変化率は非常に良く一致し、本センサーの実用性が示されたと述べている。

第7章は総括であり、本研究によって得られた結果をまとめている。

以上のように、本論文は、微生物固定化チップが使い捨て型であり、現場測定が可能なメディアエーター型 BOD センサーの構築を目的として、様々な検討を行い、量産可能な使い捨て微生物固定化チップの製法、及びその前処理法や現場における測定法を考案している。さらに携帯型の小型装置を製作し、様々な実試料測定への応用に成功している。

よって、本論文は博士(工学)の学位請求論文として合格と認められる。