

[別紙 2]

審査の結果の要旨

論文提出者氏名 韓泰成

本研究はトリクロロエチレン分解菌 *Pseudomonas aeruginosa* JI104 を認識素子として用いることにより、水に溶けているトリクロロエチレンの直接測定、および現地での測定が可能なトリクロロエチレンセンサーの構築に関するものであり、5章より構成されている。

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

第2章では、トリクロロエチレンが微生物によって分解されていく過程において塩化物イオンが発生することに着目して、微生物と塩化物イオン電極を組み合わせたトリクロロエチレン測定系を、回分操作 (Batch operation) のシステムとして構築している。*P. aeruginosa* JI104 を固定化したイオン電極(微生物電極)を挿入した緩衝液にトリクロロエチレンを含む試料を添加すると、電極に固定化された微生物がトリクロロエチレンを分解していく過程で塩化物イオンが生成することを利用し、電極近傍の塩化物イオン濃度の変化に伴う塩化物イオン電極の電位の変化から、トリクロロエチレンの濃度を推定することが出来ることを利用している。そこで、微生物固体化膜と塩化物イオン電極を組み合わせた微生物電極、比較電極、イオンメータ、プリンタによりセンサーを構成しており、親水性のテフロン膜(孔径 0.45 μm , 直径 20 mm)に、*P. aeruginosa* JI 104 を吸着固定化し微生物膜を調製している。そして、この微生物膜を塩化物イオン電極に密着させ、微生物電極としている。10 mM リン酸緩衝液のみを測定したときに得られる電位を基準値とし、トリクロロエチレンの標準溶液を用いて各濃度別のセンサーの応答を調べたところ、トリクロロエチレン濃度とセンサーの応答の間には 0.1 ppm から 4 ppm まで直線関係が得られたと報告している。この濃度領域はトリクロロエチレン排水基準の 0.3 ppm を含んでおり、諸条件下における応答を検討した結果、本センサーの最適条件は微生物の固定化量 1.5 mg、緩衝液の pH 8.5、測定温度 10℃であり、その場合測定時間は 10 分以内であったと述べている。

第3章では、第2章の問題点であった検出限界を改善するため、センサーシステムの改良を行っている。トリクロロエチレンの揮発を防ぐために、フローインジェクション分析型のトリクロロエチレンセンサーを構築し、密閉系での測定を行っている。ここでは、微生物膜と塩化物イオン電極を組み合わせた微生物電極、フローセル、比較電極、イオンメータ、インジェクタ、ペリスタポンプ、プリンタ、記録計によりシステムを構成し、トリクロロエチレンの吸着を最低限におさえるためガラス製のフローセルを用いている。その結果、0.5 ppm のトリクロロエチレン標準液 1 ml をインジェクションしたところ、温度の上昇とともにセンサーの応答 30℃で最大の応答を示し、その後は温度の上昇とともにセン

サーの応答は低下したと報告している。その理由として、システムを密閉系にすることでトリクロロエチレンの損失をおさえることができ、微生物活性が最大になる温度で最大の応答が得られたと推察している。また、フローインジェクション型センサーの最適化を行い、流速を 0.09 ml min^{-1} 、サンプルインジェクション量を 1 ml にした条件で検量線を作成したところ、 0.03 ppm から 2 ppm まで直線関係が得られ、その結果、回分操作型センサーに比べ基準値が安定し、飲み水の中の検出基準である 0.03 ppm のトリクロロエチレンが測定可能になったと述べている。

第4章では、微生物の固定化量を増やしたリアクター型にすることでセンサーシステムの寿命を伸ばす工夫を行い、また、塩化物イオンが環境中に含まれている場合の対策について検討している。微生物を固定化したガラスビーズ(micro porous glass, MPG)をガラスのシリンジに封入し、微生物カラムを作製し、トリクロロエチレン 1 ppm に対する応答値の時間変化を調べたところ、センサーの初期応答値を 100% とした場合、6日目で 50% 以下になったと報告している。さらに、地下水中に存在するであろう塩化物イオンの電極に対する影響を検討するために、二本の塩化物イオン電極を用いる差動型にし、一方の電極は微生物カラムを通したサンプル液、もう一方の電極にはカラムを通していないサンプル液を流し、両電極の応答の差をとることでトリクロロエチレンの分解により生成する塩化物イオンのみを測定することを試みている。その結果、 2 ppm の塩化物イオンが含まれているトリクロロエチレン溶液を調製し、差動型システムにより測定を行った結果、センサー応答は塩化物イオンの影響を受けないことを明らかにしている。

第5章は総括であり、本研究を要約して得られた研究の成果をまとめている。

以上、本論文は、トリクロロエチレン分解菌 *Pseudomonas aeruginosa* JI104 を認識素子として用いることにより、水に溶けているトリクロロエチレンの直接測定が可能なセンサーの構築にはじめて成功し、現地でのトリクロロエチレンの測定における問題点とその解決法を明らかにしている。

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。