

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5017647号
(P5017647)

(45) 発行日 平成24年9月5日(2012.9.5)

(24) 登録日 平成24年6月22日(2012.6.22)

(51) Int. Cl. F 1
GO 1 N 33/18 (2006.01) GO 1 N 33/18 E
 GO 1 N 33/18 F

請求項の数 5 (全 7 頁)

<p>(21) 出願番号 特願2007-50428 (P2007-50428) (22) 出願日 平成19年2月28日 (2007. 2. 28) (65) 公開番号 特開2008-215885 (P2008-215885A) (43) 公開日 平成20年9月18日 (2008. 9. 18) 審査請求日 平成21年9月1日 (2009. 9. 1)</p> <p>前置審査</p>	<p>(73) 特許権者 504150450 国立大学法人神戸大学 兵庫県神戸市灘区六甲台町 1 - 1</p> <p>(74) 代理人 100088904 弁理士 庄司 隆</p> <p>(72) 発明者 洲さき敏伸 兵庫県神戸市灘区六甲台町 1 番 1 号 国立 大学法人神戸大学内</p> <p>(72) 発明者 吉村知里 兵庫県神戸市灘区六甲台町 1 番 1 号 国立 大学法人神戸大学内</p> <p>(72) 発明者 大村現 兵庫県神戸市灘区六甲台町 1 番 1 号 国立 大学法人神戸大学内</p> <p style="text-align: right;">最終頁に続く</p>
--	--

(54) 【発明の名称】 水質検査装置および方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

検水を流通させて検出槽に導く給水工程と、前記検出槽中に汽水条件下において保持されるハリタイヨウチュウと前記検水を接触保持させる接触工程と、洗浄によるハリタイヨウチュウの遊離度を指標として検水中への汚染物質の混入を検知する検知工程とを有することを特徴とする水質検査方法。

【請求項 2】

前記検出槽を 1 5 ~ 2 5 に保持する請求項 1 の水質検査方法。

【請求項 3】

検出槽中に保持されるハリタイヨウチュウが、検査前 3 0 分以上前に検出槽に導入され底面への付着が安定している請求項 1 又は 2 に記載の水質検査方法。

【請求項 4】

検水が、自然水、上水、下水、土壌の流水である請求項 1 ~ 3 の何れかーに記載の水質検査方法。

【請求項 5】

汚染物質が、クロロホルム、ホルムアルデヒド、ジクロロメタン、ベンゼン、砒素イオン、水銀イオン、カドミウムイオン、鉛イオン、銅イオン、亜鉛イオンである請求項 1 ~ 4 何れかーに記載の水質検査方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

20

【0001】

本発明は、太陽虫の生物活性度を測定することにより、水中の汚染物質の存在を検知する水質検査装置および方法に関する。

【背景技術】

【0002】

従来、水質検査、水質モニタリングのために生物活性度を指標として水中の毒性物質を評価することが行なわれており、たとえば、検査対象となる水（以下、検水と略称する。）が注入された水槽に金魚、コイ、フナ等の魚類に代表される水棲生物を飼育し、一定時間経過後のこれら水棲生物の挙動や致死率から水質異常を検知する水質検査システム、硝化菌、鉄酸化菌等を固定化した微生物膜を溶存酸素電極に装着したセンサーを用いて、上記微生物がそれぞれアンモニア、鉄を酸化する際に消費される溶存酸素を検出し、検水における溶存酸素の変化をモニタリングすることで毒性物質の混入を判定を行なう水質検査システム（特許文献1）が提案、実用化されている。

10

【0003】

太陽虫の細胞は球形またはそれに近い形であり、細胞は単独の場合が多いが、群体を形成する種もある。特徴的に細胞から多数の軸足を放射状に出し、軸足の先端は針状に細くなっており、ほとんど動きはない。細胞の大きさはさまざまで、400倍でも小さく見えるものから100倍でかなり大きく見えるものまでである。浮遊生活をするのはあまりなく、水草の間や水底の泥の上などで底生生活をし、極めて普通に見られる生物である。太陽虫は、肉質鞭毛虫門有軸足虫綱太陽虫綱に属する生物の総称であって、アメーバとはかなり見た目が異なるが、アメーバに近い、単細胞の生物である。針のような軸足を多数放射状に伸ばしおり、これで捕食や移動をする。しかし、たまに軸足を動かす以外はほとんど動きがない。種類が多く、細胞表面は厚い寒天質基質でおおわれているもの、多数の小鱗片でおおわれているもの、有機質の孔のあるからでおおわれているもの、砂粒をつけているもの、殻などでおおわれておらず、収縮胞が目立つものなどいろいろある。大部分淡水産で、海にすんでいるものはごくわずかである。

20

【特許文献1】特公平7-85072号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

微生物を用いた水質検査システムにおいては、硝化菌、鉄酸化菌の餌であるアンモニアや鉄を供給する必要があり、また、pH調整のための緩衝液を供給して微生物の培養条件を整える必要がある。魚類を用いた水質検査システムにおいても、魚類の生存のためには餌を供給することが必要である。しかも、一般にそれらは感度が低く、検出にも相当の時間がかかり、その上装置が大型で高価であるという問題があった。

30

【0005】

本発明は、上記の解決すべき課題に鑑みてなされたものであり、迅速かつ高感度に環境中の毒性物質を検出することのできる簡便かつ低コストの水質検査装置および方法を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

40

【0006】

本発明者は、太陽虫の生物活性度を指標とすることで水質検査装置および方法が、極めて効率的、簡便に、安価に達成できることを見出し本発明を完成した。

つまり、本発明は以下からなる；

1. 検水を、一端から給水し他端から排出するように構成した流水経路を形成し、該流水経路中に太陽虫を保持する検出槽を設けるとともに、その検出槽における太陽虫の生物活性度を指標として検水中への汚染物質の混入を検知する検知手段を設けたことを特徴とする水質検査装置。

2. 前記太陽虫がタイヨウチュウ目、カゴメタイヨウチュウ目、キリオフリス目、スチロロンケ目、カラタイヨウチュウ目、ラブディオフリウス目から選ばれる前項1に記載の水

50

質検査装置。

3．前記太陽虫がタイヨウチュウ属、オオタイヨウチュウ属、カラタイヨウチュウ属、トゲタイヨウチュウ属、カゴメタイヨウチュウ属、ハリタイヨウチュウ属から選ばれる前項1に記載の水質検査装置。

4．前記検知手段が、太陽虫の検出槽における底面からの遊離度を測定するように構成されることを特徴とするものである前項1～3の何れかーに記載の水質検査装置。

5．前記検知手段が、検出槽に保持される太陽虫の数を測定することである前項1～3の何れかーに記載の水質検査装置。

6．検水との接触後、所定の時間の洗浄によって、前記検出槽に保持される太陽虫の数を測定する前項5の水質検査装置。

7．前記検出槽が、流入口と排出口を持つ光透過性のシャーレ状容器であり、容器の底部には太陽虫が底面との接触により付着可能であり、要時、容器底部に太陽虫を付着させてなる前項1～6何れかーに記載の水質検査装置。

8．前記流入口から前記検出槽に流入した検水をシャーレ状容器において底面に付着する太陽虫と接触させ、一定時間経過後、洗浄による太陽虫の付着数を測定する前項7に記載の水質検査装置。

9．太陽虫数の測定が、容器の下側から光を与え、顕微鏡検査で白く光る太陽虫をデジタル画像で画像解析装置に取り込みおこなわれる前項8に記載の水質検査装置。

10．検水を流通させて検出槽に導く給水工程と、前記検出槽中に保持される太陽虫と前記検水を接触保持させる接触工程と、洗浄による太陽虫の遊離度を指標として検水中への汚染物質の混入を検知する検知工程とを有することを特徴とする水質検査方法。

11．前項1～9の何れかーに記載の装置を使う水質検査方法。

12．前記検出槽を15～25に保持する前項10又は11の水質検査方法。

13．検出槽中に保持される太陽虫が、検査前30分以上前に検出槽に導入され底面への付着が安定している前項10～12何れかーに記載の水質検査方法。

14．検出槽中に保持される太陽虫が、汽水条件下におかれる前項13に記載の水質検査方法。

15．検水が、自然水、上水、下水、土壌の流水である前項10～14の何れかーに記載の水質検査方法。

16．汚染物質が、クロロホルム、ホルムアルデヒド、ジクロロメタン、ベンゼン、砒素イオン、水銀イオン、カドミウムイオン、鉛イオン、銅イオン、亜鉛イオンである前項10～15何れかーに記載の水質検査方法。

【発明の効果】

【0007】

本発明によれば、太陽虫を用いることにより、太陽虫は毒性物質に対して敏感であるとともに、培養が容易で、微生物同様、大量での取り扱いが可能であることから、高感度、迅速かつ簡便に毒性物質の検知を行うことが可能となった。さらに、太陽虫は、給餌およびpH調整が不要であるので、餌およびpH調整用に大量に消費されていた緩衝液が不要となり、コスト削減に貢献できるとともに、給餌および緩衝液供給に要する設備の設置が不要であるので、水質検査装置のシンプル化、小型化かつ低コスト化が図れるとともに、ひいてはメンテナンスも容易となる。また、太陽虫の生物活性度を餌に関係無く把握できるという利点がある。また、太陽虫の生物活性度に基き毒性物質の存在を検知することから、溶存酸素量を生物活性度の指標とする場合に比べ、安全性と確実性が増大する。

【発明を実施するための最良の形態】

【0008】

本発明の水質検査装置は太陽虫の生物活性度が、検水中に汚染された汚染物質の影響を受けることをその基本的原理とする。本発明の水質検査装置において、太陽虫の生物活性度は、検出槽で測定される。検出槽には、太陽虫を維持させ、接触前の検出槽の太陽虫数を計数し、その後検出槽の一端から検水を導入し、一定時間（例えば、5～30分間）接触させ、次いで検出槽の太陽虫数を計数し、その数の減少によって汚染物質の夾雑を検定

10

20

30

40

50

する。

検出槽には、入り口と出口の少なくとも2つの口を有する。

【0009】

本発明の水質検査装置で用いる太陽虫は、生物学的分類によると、太陽虫綱に属する生物を広く適用できる。それらは、例えば、タイヨウチュウ目、カゴメタイヨウチュウ目、キリオフリス目、スチコロンケ目、カラタイヨウチュウ目、ラブディオフリウス目に属する生物であり、特にタイヨウチュウ属、オオタイヨウチュウ属、カラタイヨウチュウ属、トゲタイヨウチュウ属、カゴメタイヨウチュウ属、ハリタイヨウチュウ属等から選ばれる太陽虫が好適な指標生物となる。

【0010】

本発明の水質検査装置において太陽虫の生物活性度は、太陽虫の検出槽における底面への付着性（保持力性：底面に付着して離れにくいことを意味する）を意味し、安定に太陽虫が検出槽の底面に付着した状態から、検水導入によって、その付着性の低下で洗浄による底面からの遊離度を測定し、検水中の毒性物質の汚染度を評価するものである。遊離度は、検出槽に保持される太陽虫の数を測定することであり、安定に太陽虫が検出槽の底面に付着した状態から、検水との一定時間の接触後の洗浄による太陽虫の数の変化減少を指標にする。洗浄のための洗浄水は、太陽虫の安定化のための水溶液と同じでよく、例えば5～20%汽水（例えば10W/W%食塩水）が例示される。洗浄水による流速は、太陽虫との接触面において、流速0.1～5mm/sec、好ましくは0.5～2mm/sec、より好ましくは0.8～1.5mm/sec、流量0.5～5ml/min、好ましくは1～2ml/min、より好ましくは1.2～1.7ml/minである。

【0011】

本発明の水質検査装置において、検出槽は流入口と排出口を持つ光透過性の平らな底面をもつシャーレ状容器であり、容器の底部には太陽虫が底面との接触により付着可能であり、要時、容器底面に太陽虫を付着させる。本発明においては、前記流入口から前記検出槽に流入した検水をシャーレ状容器において底面に付着する太陽虫と接触させ、一定時間経過後、洗浄し、太陽虫の付着数を測定することによって構成される水質検査装置を提供する。太陽虫数の測定は、容器の下側から光を与え、顕微鏡検査で白く光る太陽虫をデジタル画像で画像解析装置に取り込みおこなわれる。光は、可視光線、赤外線が利用できる。

【0012】

本発明の水質検査方法は、検水を導入させて検出槽に導く給水工程と、前記検出槽中に保持される太陽虫と前記検水を接触保持させる接触工程と、洗浄水を導入させて太陽虫を底面から遊離させる洗浄工程と、太陽虫の遊離度を指標として検水中への汚染物質の混入を検知する検知工程とを有する。検知は、検水との接触前の太陽虫数と接触・洗浄後の太陽虫数との比較することで行われる。このような本発明の水質検査方法は、上述の水質検査装置を使うことで達成できる。

【0013】

本発明の水質検査方法は、太陽虫を付着させた検出槽を15～25に保持することによって行われる。また、検出槽中に保持される太陽虫は、安定した付着状態にあることが測定値の信頼性のためには必要で、そのためには検査前30分好ましくは1時間以上前に検出槽に太陽虫が導入され底面への付着がなされていることが好ましい。さらに、検出槽中に保持される太陽虫が、汽水条件下におかれることが好ましい。これは、汽水であれば、塩分が通常の淡水よりも、少し多めの約5～20%程度であることから、太陽虫にとって、より厳しい環境下におかれることになるが、下水や土壌滲出水などのように検水のイオン強度や浸透圧がある程度高い場合にも汚染物質の検知が可能となる。

【0014】

本発明の水質検査方法は、検水が、自然水、上水、下水、土壌の流水等が好適に対象となる。また、その毒性物質である汚染物質は、クロロホルム、ホルムアルデヒド、ジクロロメタン、ベンゼン、砒素イオン、水銀イオン、カドミウムイオン、鉛イオン、銅イオン

10

20

30

40

50

、亜鉛イオン等が例示される。以下の実施例では代表的物質として水銀を使い検定したが、これはこれまでもっとも指標物質として汎用され、その結果の一般的予測性が高いものであるからであり、本発明がこの物質のみに限定されるものではない。

【実施例】

【0015】

実施例 1

本発明装置の構成

図 1 に示すように、水質検出装置は、流入口と流出口をもつ検出槽を有し、その検出槽の底面は平面であり、検出槽の下方部から照明例えば落射照明ランプを照らし、その光を受けて光る検出槽の底面に付着する太陽虫は、顕微鏡によってとらえられビデオカメラによってデジタル映像として解析用パソコンに転送され例えば $1 \sim 2 \text{ mm}^2$ での太陽虫数を計測する。測定は、例えば、左のフラスコから十分量の太陽虫が 10% 汽水 (10 W/W% 食塩) 条件下で検出槽に送られ、検出槽で約 15 ~ 30 分間安定化させ、検査前太陽虫数を計数し、その後検水を左側から送り、室温 (約 15) で 5 ~ 30 分間接触させた。その後、10% 汽水で洗浄後 (流速 1mm/sec、流量 1.5 ml/min)、洗浄時間に応じて経時的に太陽虫数を計数した。

10

【0016】

実施例 2

ハリタイヨウチュウ (RAC) に対する Hg の効果を、Olympus 実体顕微鏡を用いて調べた。HgCl₂ の 3.6 mg/l を作って、RAC と 1:1 で混合した。1 ~ 2 分で、軸足の収縮といった感じの比較的早い短縮が、軸足ごとにばらばらと生じて、5 分くらいで全部が完全に短縮した。検査装置にセットして、還流させた。検水を導入して、細胞に到達する時間は 6 分であった。まず、細胞を 10% 汽水で洗浄し、その様子を、10 秒間隔で録画した。Hg により軸足が短縮すると、細胞は基底面に貼りついた。短時間で水流によって流れ去ることはない。しかし、時間が経つと、次第にはがれ落ちて、視野に存在する細胞の数は減少していった。

20

オオタイヨウチュウ (ACS) でも同様であった。

【0017】

実施例 3

RAC に及ぼす HgCl₂ の影響を本発明の装置を使い検討した。検水には、HgCl₂ 不含の 10% 汽水 (コントロール)、HgCl₂ を 0.1mg/L 含有 10% 汽水、HgCl₂ を 1mg/L 含有 10% 汽水を使った。RAC と各検水の接触を各検水の約 800 ul を導入しておこなった。接触は約 30 分行い、その後 10% 汽水で洗浄した (流速 1mm/sec、流量 1.5 ml/min)。洗浄時間を約 220 分までおこない RAC 数の変化を追った。その結果、処理後約 50 分で効果が判定できた。細胞数が半減する濃度は、約 0.1mg/L であり、軸足の短縮についての LE50 (0.08mg/L) とほぼ同等の感度を得た。図 2 はその結果を示し、横軸は、接触開始後からの時間、縦軸は細胞数 (相対値) を示す。

30

【産業上の利用可能性】

【0018】

本発明の水質検査装置および毒性物質検知方法は、浄水場、排水処理施設等における水質検査等、環境監視分野における広範な適用が期待される。

40

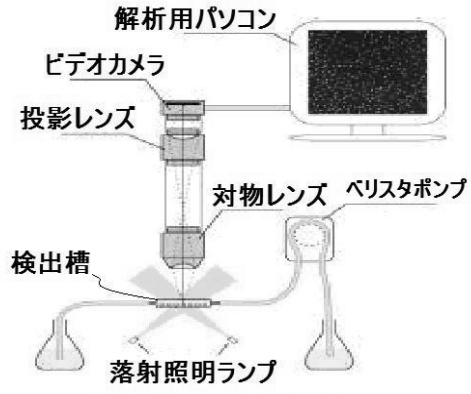
【図面の簡単な説明】

【0019】

【図 1】装置の概略

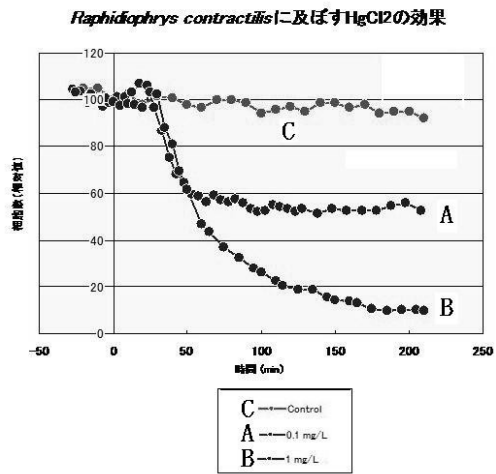
【図 2】測定結果

【 図 1 】



暗視野型モニタリング装置

【 図 2 】



フロントページの続き

審査官 加々美 一恵

(56)参考文献 特開2007-043943(JP,A)

原生動物学雑誌, 2006年, 第39巻第1号, p134-135

原生動物学雑誌, 2005年, 第38巻第1号, p44-45

原生動物学雑誌, 2011年, 第44巻第1号, p53-54

原生動物学雑誌, 2006年, 第39巻第1号, p137-138

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 33/18

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)