

長期連続 pH モニタリングのための間欠駆動型参照電極の開発

人間環境学専攻 2020 年 3 月修了 47-186725 樋口 昌吾
指導教員 伊藤 寿浩 教授

A novel Ag/AgCl reference electrode (RE) system that can both control an electrolyte outflow and deposit AgCl for two-year or longer rumen pH monitoring was invented. To overcome a problem that a fast electrolyte outflow shortens Ag/AgCl RE lifetime, a valve actuator was integrated to a liquid junction in order to reduce the outflow by intermittent measurement. In addition, a platinum electrode system was introduced to apply hydrogen pressure that assists valve operation by removing air bubbles in the junction. The proposed RE system was successfully fabricated and it was experimentally demonstrated that it could measure pH with the error of less than 0.1 in combination with the pH glass electrode. By applying it to a rumen pH sensor, its lifetime could be estimated at 2.47 years by calculating the electrolyte outflow, which meets the requirement of cow's rumen pH monitoring.

Key words: pH Sensor, Reference Electrode, Liquid Junction, Shape Memory Alloy, Hydrogen Evolution

1 序論

近年、畜産分野で牛のルーメン（第一胃）液の pH モニタリングが益々重要性を増している。生産の効率化を目的とした濃厚飼料多給技術が、ルーメン液の pH を 7 から 5.5 以下まで低下させるルーメンアシドーシスという病気を引き起こすが、pH モニタリングを行うことで、重症化を未然に防ぐことが可能になる¹⁾。そのための無線 pH センサデバイスの研究が約 10 年前から行われている^{1,2)}。筆者らのグループでも、牛が容易に飲み込めルーメン内に留まるよう、図 1 に示すサイズの pH センサを開発している。肉牛の出荷までの期間が 2 年間であり、その間メンテナンス無しで使用可能なルーメンセンサが求められている。しかし、このサイズの pH センサの寿命は高々 3 か月であり、これは参照電極（RE）に原因がある。

完全固体参照電極の研究も盛んだが³⁾、今も銀塩化銀参照電極が最も信頼できる⁴⁾。銀塩化銀参照電極は式(1)の平衡が成り立つ間のみ一定の電位を保つ。



銀塩化銀電極を長寿命化する上で、電解液の消費が課題となっている⁵⁾。電解液量が減ることだけではなく、外部液体が流入することにより、塩化物イオン濃度が低下することも電解液の消費と呼ぶ。電解液の流出量を抑えるため、一般的には多孔フリット液絡が用いられるが、気泡や塩化銀錯体の詰まりにより生じる液間電位変化が電極全体の電位をドリフトさせるという問題がある⁶⁾。

本研究では、長期連続 pH モニタリングのための参照電極、特に 2 年間メンテナンス無しで使用可能なルーメン pH センサへできる間欠駆動型参照電極を開発する。pH センサ長寿命化のボトルネックとなっている銀塩化銀電極に関して、電解液消費の課題を解決するため液絡部にバルブを取り付け、また電解液容器内部で水素を発生させ電解液に圧力をかける新たなシステムを提案する^{7,8)}。水素発生システムでは、同時に塩化銀が銀塩化銀電極上に析出するため、塩化銀溶解による電位ドリフトの課題も解決する。提案した電極について、電解液流出量の計算から寿命を推定し、またバルブの開閉により電極電位が不安定にならないことと水素圧により気泡除去が可能であることを実験的に示す。さらに、間欠駆動型参照電極を設計・試作し、その精度を実験的に評価するだけでなく、ルーメン液を用いた計測によりルーメンセンサへの適用可能性を示す。

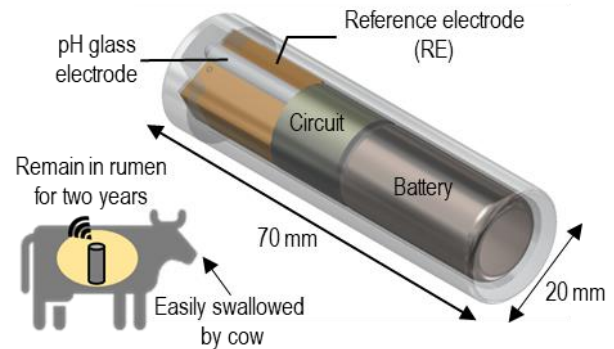


Fig. 1 Design of our wireless rumen pH sensor.

2 間欠駆動型参照電極の提案

2.1 バルブ液絡型参照電極

液絡部にバルブをつけて計測時のみ電解液を流出させるバルブ液絡型参照電極を提案する。計測時は電解液が自由流出するため液間電位が変化せず、計測時以外は液絡を閉じることで電解液消費を抑える。ルーメンモニタリングにおいては 1 時間に 1 回程度の間欠計測で十分であるため、バルブ液絡型参照電極を用いた間欠計測により、電位の精度を維持しつつ電解液の消費量を抑えられる。設計・試作を行ったバルブ液絡型参照電極の構造を図 2 に示す。

参照電極の液絡開閉により、電位が不安定にならないこと、間欠計測を行うために十分な応答時間の速さが実現できることを実験的に確かめた。この実験では、参照電極の液絡として内径 0.50 mm のシリコンチューブを使用し、クリップを使って手動でシリコンチューブをはさむことで液絡の開閉を行った。また、指示電極として銀塩化銀電極を、試験液として塩化カリウム水溶液を使用し、実験の途中で濃度を変化させた。実験結果を図 3 に示す。濃度を変えた前後で開閉した際には、濃度に応じた電位を示した。また、濃度変化せずに開閉した際の、開閉前後の電位の差は 0.5 mV 以下であった。開閉時の応答時間は、開時も閉時も 0.083 秒以下であった。この値は、1 時間に 5 秒の間欠計測を行う上で十分に小さい。

2.2 水素圧援用バルブ液絡型参照電極

外部液体の電極内部への流入による電解液汚染を防ぐため、また 2.1 のバルブ液絡型参照電極で稀に液絡部に気泡が詰まり導通が妨げられるという致命的な問題を解

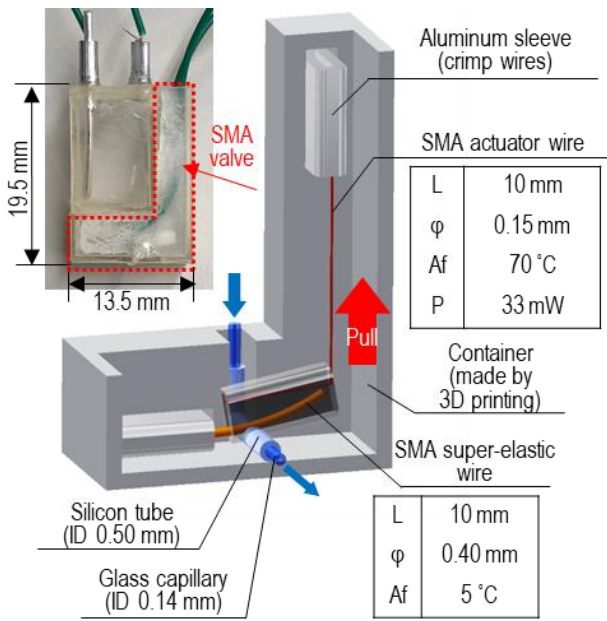


Fig. 2 Structure of the valve-actuator-integrated RE. When voltage is applied to an SMA actuator wire, an SMA super-elastic wire is pulled, and the tube opens.

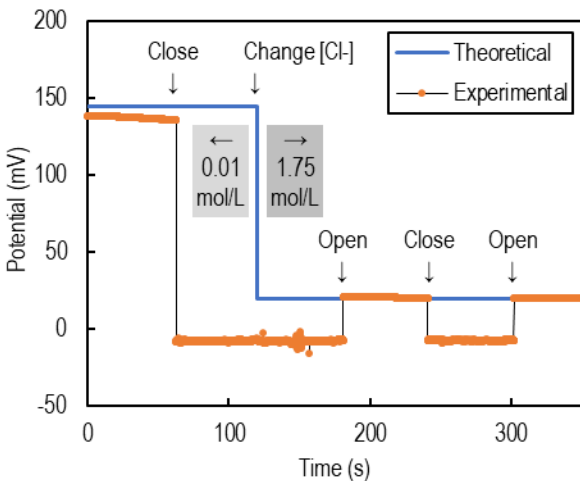


Fig. 3 Potential response of a Ag/AgCl RE when its liquid junction was closed and then opened.

決するため、参照電極内部で水素を発生させる水素圧援用バルブ液絡型参照電極を提案する。その原理の模式図を図4に示す。銀塩化銀電極だけでなく白金電極が電解液に浸してある。その2つの電極の間に電圧をかけることで、白金線上では水素発生が起こり、銀塩化銀電極上では塩化銀の析出が起こる。発生した水素の圧力により、汚染されことなく電解液は外部へ流出し続け、また液絡部に稀に詰まる気泡をその圧力により除去することが可能になると考えられる。水素圧援用バルブ液絡型参照電極使用時のバルブと水素圧の動作を図5に示す。

水素圧により液絡に詰まる気泡を除去できることを、実験的に確かめた。液絡のインピーダンスを計測しながら、白金電極と銀塩化銀電極の間に3Vの電圧をかけることで水素を発生させた。この時に計測される電流から、発生した水素の物質量が分かる。計測結果を図6に示す。水

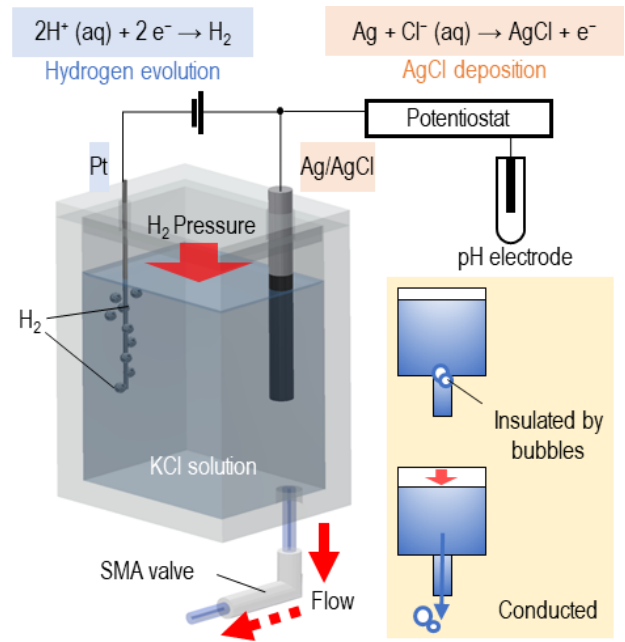


Fig. 4 Principle of the hydrogen pressure system. When voltage is applied, hydrogen is generated, and AgCl is coated on Ag simultaneously. Air bubbles in the valve liquid junction can be removed by hydrogen pressure.

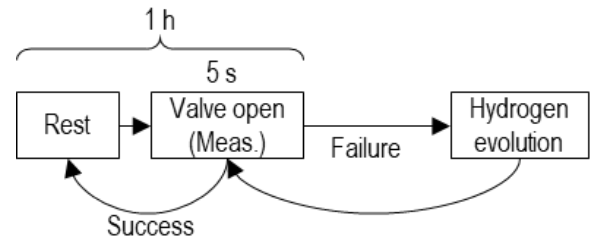


Fig. 5 Block diagram of operation of the proposed RE.

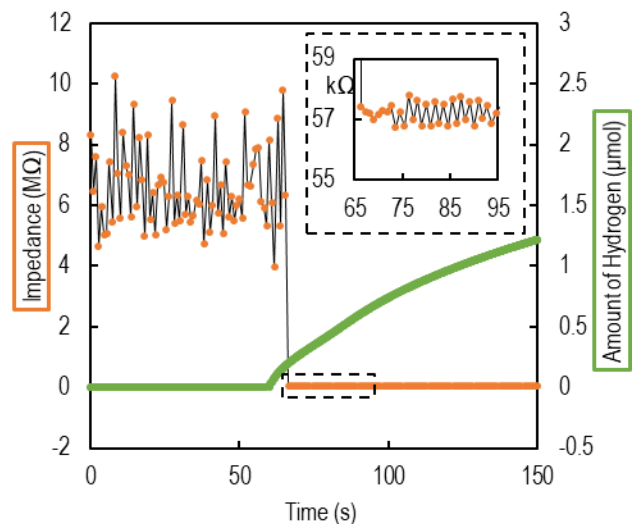


Fig. 6 Impedance of the prototype and the amount of hydrogen calculated from the electric current. The liquid junction was initially insulated by air bubbles.

素発生に伴い、レンジ外であった液絡のインピーダンスが57kΩまで小さくなったことを確認した。これは液絡部に詰まった気泡が除去されたことによるものである。

2.3 電解液流出量の推定

水素圧援用バルブ液絡型参照電極の電解液流出量の推定のため、まずバルブ液絡を円管モデルに近似し、ハーゲン・ポアズイユの式を基に圧力を変数とする流量を求めた。バルブ閉時の流出量は $P \times 10^{-8}$ [$\mu\text{L}/\text{h}$] であり、バルブ開時の流出量は $3.5P \times 10^{-3}$ [$\mu\text{L}/\text{h}$] である。ただし P は水素圧の大きさである。これ以降バルブ閉時の流出量は 0 とする。次に、参照電極容器内部の水素が理想気体でありボイルの法則が成り立つという仮定と、流出した電解液の体積と増加した容器内部の水素の体積が等しいという仮定を用いて、時間を変数とする水素圧と電解液総流出量の式を求めた。それぞれ以下の式(2)と式(3)に示す。

$$P[t] = \frac{V_0}{\alpha} \left(\frac{2P_0V_0}{\alpha} t + \frac{V_0^2}{\alpha^2} \right)^{-\frac{1}{2}} \quad (2)$$

$$V[t] = \sqrt{2\alpha P_0 V_0 t + V_0^2} \quad (3)$$

この式から、バルブ液絡型参照電極が、バルブの体積を含めてもおお小型化に有効であることを確かめる。使用前に 20 kPa の圧力を電解液にかけた時の、バルブ液絡型参照電極の 2 年間の電解液流出量は $5.0 \times 10^2 \mu\text{L}$ であり、自由流出液絡の参照電極では、13 mL であった。本研究で製作した、電解液 500 μL を蓄えた水素圧援用バルブ液絡型参照電極の体積は、バルブ部分を含めても $1.8 \times 10^3 \text{ mm}^3$ なので、バルブ液絡型参照電極は電解液流出を抑えることにより、自由流出液絡の参照電極よりも 7 倍長寿命であることが明らかになった。

次に、水素圧援用バルブ液絡型参照電極の電解液流出量を推定する。この推定では、バルブ液絡により 1 時間に 5 秒の間欠計測を行い、水素圧による気泡除去を 1 カ月に 1 回行うと仮定する。なお、気泡除去に必要な圧力は高々 5 kPa であることが実験的に確かめられている。推定結果を図 7 に示す。電解液の総流出量は、2 年間で 403 μL であった。これより容器の容量を大きくすれば、電解液流出が原因の寿命は 2 年を超えると考えられる。本研究で試作を行う電極の電解液容器の体積を 500 μL とすると、寿命は 2.47 年と推定される。

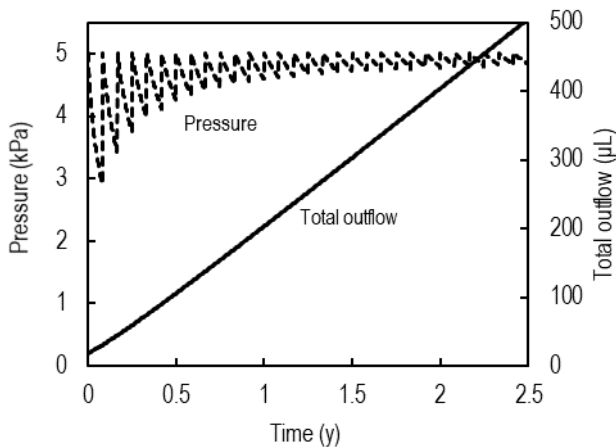


Fig. 7 Estimation of the electrolyte outflow and hydrogen pressure over two years when intermittent measurement is performed for 5 s every hour, and hydrogen is generated until 5 kPa of pressure once every month.

3 間欠駆動型参照電極を用いた電位計測

バルブ液絡型参照電極を用いて 24 時間の電位計測を行った。SMA を 1 時間に 5 秒間駆動し、電位計測は連続して行った。試作電極を指示電極とすれば、参照電極としては自由流出液絡の自作参照電極を用いた。この電極は電解液が無くなる限りドリフトが 0 mV とみなせる。計測結果を図 8 に示す。1 時間に 1 回、絶縁状態から導通し電位計測が行われていることが読み取れる。また約 26 mV で電位は安定している。その上下の外れ値はバルブ開閉時のノイズである。外れ値を除いたバルブ開時の計測電位の標準偏差は 0.29 mV であった。このばらつきは、電解液が消費されない限り変化しないと考えられる。

次に、水素圧援用バルブ液絡型参照電極の気泡除去システムにより、計測開始時に液絡に気泡が詰まっても、電位が計測可能になることを実証する。実験結果を図 9

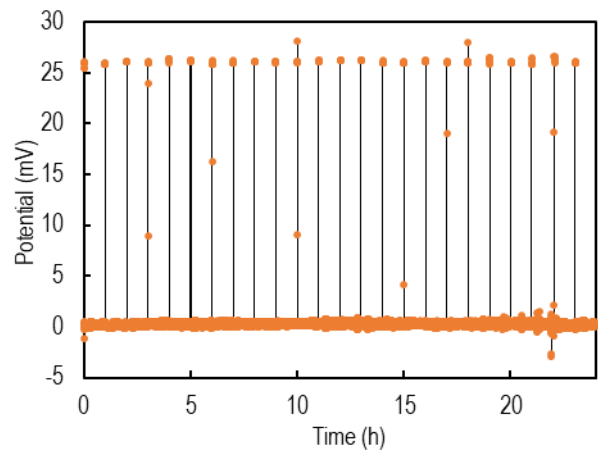


Fig. 8 Potential measurement of the valve-actuator-integrated RE versus a free-diffusion liquid junction RE which can be considered to have no potential drift.

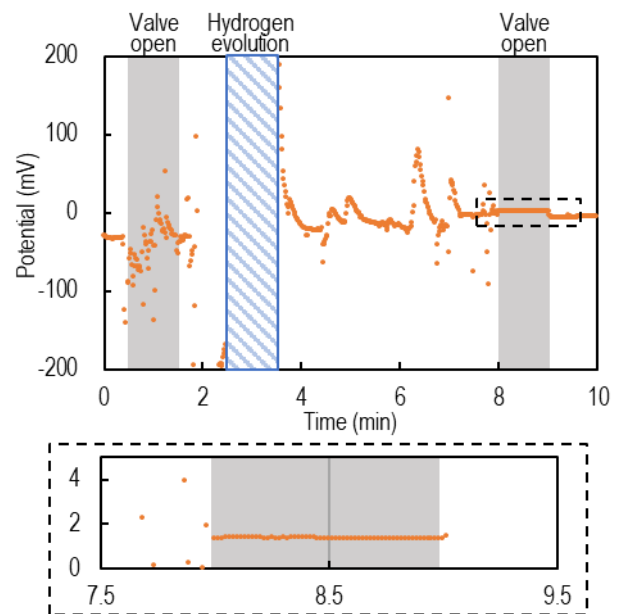


Fig. 9 Potential measurement conducted by the proposed RE and a commercial RE when generating hydrogen and opening the SMA valve.

に示す。試作電極を指示電極とすれば、参照電極には市販参照電極を用いている。計測開始時はバルブを開閉しても電位は大きく変動し、計測が出来ていないが、水素発生後にバルブを開けると、安定に電位の計測を行うことが出来た。このときの電位の標準偏差は 0.012 mV であった。

水素圧援用バルブ液絡型参照電極の、ルーメン液 pH 計測時の精度を評価した。ルーメン液は飼料などの固形物を含み、粘性が大きい。実験結果を図 10 に示す。計測時は SMA の駆動も同時に行われている。水素発生前は絶縁しており計測が出来ていないが、水素発生後は安定した pH 値を示した。水素発生後の計測中の平均値は 6.7 であり、市販 pH センサの示した値との差は 0.1 であった。

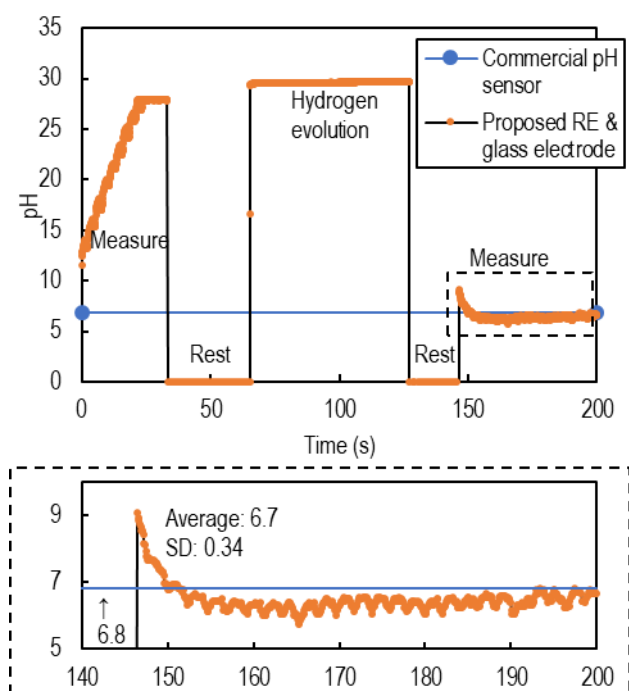


Fig. 10 pH measurement of rumen fluid with the proposed RE. After applying hydrogen pressure, stable measurement was performed.

4 結論

本研究では、長期連続 pH モニタリングのための参照電極、特に 2 年間メンテナンス無しで使用可能なルーメン pH センサへ適用できる間欠駆動型参照電極の開発を行った。液絡を開閉することで電解液の流出量を抑え、かつ安定に電解液が外部へ流出し続けるよう内部から水素圧をかけるシステムを銀塩化銀参照電極に導入した。

電解液流出量の計算により、 $500 \mu\text{L}$ の電解液を蓄える水素圧援用バルブ液絡型参照電極の寿命は 2.47 年と推定された。また、液絡の開閉前後の電位の差が 0.5 mV 以下であり、応答時間は 0.083 秒以下であること、水素圧により液絡部の気泡除去が可能であることを実験的に確認した。

提案手法を用いた電極を設計・試作し、その評価を行った。24 時間の電位計測では、1 時間に 5 秒間 SMA に電圧をかけたところ、24 回全てでバルブが動作し電位計測が行われ、バルブ開時の電位の標準偏差が 0.29 mV であ

った。また、計測開始時に液絡に気泡が詰まった状態の試作電極を用いて、水素圧による気泡除去とバルブ開閉により、電位の標準偏差 0.012 mV の安定な計測が可能であることを実証した。さらに、試作電極と専用駆動回路を用いてルーメン液の pH 計測を行ったところ、計測の平均値と市販センサの計測値との差が 0.1 以下であった。

以上から、水素圧援用バルブ液絡型参照電極は、pH 誤差 0.1 以下で 2.47 年メンテナンス無しでルーメン液の計測が可能であると結論付けられる。

文献

- 1) L. Zhang, J. Lu, H. Okada, H. Nogami, T. Itoh, and S. Arai, "Low-Power Highly Sensitive pH Sensor With μ dots Protective Structures for Monitoring Rumen in Cows in Real-Time," *Ieee Sensors Journal*, vol. 17, no. 22, pp. 7281-7289, Nov 2017.
- 2) T. Mottram, J. Lowe, M. McGowan, and N. Phillips, "Technical note: A wireless telemetric method of monitoring clinical acidosis in dairy cows," *Computers and Electronics in Agriculture*, vol. 64, no. 1, pp. 45-48, Nov 2008.
- 3) U. Guth, F. Gerlach, M. Decker, W. Oelssner, and W. Vonau, "Solid-state reference electrodes for potentiometric sensors," *Journal of Solid State Electrochemistry*, vol. 13, no. 1, pp. 27-39, Jan 2009.
- 4) H. Suzuki, T. Hirakawa, S. Sasaki, and I. Karube, "Micromachined liquid-junction Ag/AgCl reference electrode," *Sensors and Actuators B-Chemical*, vol. 46, no. 2, pp. 146-154, Feb 1998.
- 5) M. W. Shinwari, D. Zhitomirsky, I. A. Deen, P. R. Selvaganapathy, M. J. Deen, and D. Landheer, "Microfabricated Reference Electrodes and their Biosensing Applications," *Sensors*, vol. 10, no. 3, pp. 1679-1715, Mar 2010.
- 6) M. P. S. Mousavi, S. A. Saba, E. L. Anderson, M. A. Hillmyer, and P. Buhmann, "Avoiding Errors in Electrochemical Measurements: Effect of Frit Material on the Performance of Reference Electrodes with Porous Frit Junctions," *Analytical Chemistry*, vol. 88, no. 17, pp. 8706-8713, Sep 2016.
- 7) S. Higuchi, S. Takamatsu and T. Itoh, "Ultra-Long-Life Miniature pH Sensor with a SMA Valve-Actuator Integrated Liquid Junction for Rumen Monitoring," 2019 20th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems & Eurosensors XXXIII (TRANSDUCERS & EUROSENSORS XXXIII), Berlin, Germany, 2019, pp. 1411-1414.
- 8) S. Higuchi, S. Takamatsu, T. Itoh and H. Okada, "Electrolyte-Flow-Controlled Reference Electrode using Hydrogen Pressure for an Ultra-Long-Life Rumen pH Sensor," 2019 IEEE SENSORS, Montreal, QC, Canada, 2019, pp. 1-4.