

バイオセンサによる有機酸濃度の測定

株式会社 東 芝 ○山口征治

林 巧

電気化学計器(株) 江藤幹愛

1. まえがき

汚泥の嫌気性消化法は古くから用いられているが、近年省エネルギーの点から注目されてきている。この嫌気性消化プロセスを合理的に運転管理して行く上で有機酸は重要な指標であるが、簡単に測定できるセンサがないため、メタンガス発生量やpH値が運転指標にされている。一方バイオテクノロジーとエレクトロニクス技術を結合したバイオセンサの研究も盛んに行われている。このバイオセンサを用いた前処理部まで含めた有機酸測定システムの開発試作を行い、諸特性データを得たので報告する。

2. バイオセンサの構造

バイオセンサの基本的な原理、構成についてはすでに数多くの文献^{1), 2)}に述べられているので省略し、ここでは今回用いた有機酸測定用バイオセンサ(以下有機酸センサと省略)について述べる。

有機酸センサは図1に示すように酵母菌(*T. brassicae*)を多孔性膜(親水性アセチルセルロース膜)の間に封入固定した微生物膜をポーラロ式酸素電極上に重ね、その上をガス透過性膜で被ったものである。酵母菌は純水で希釈して吸光度一定になるように調整し、この菌体を分取して多孔性膜間に封入する。

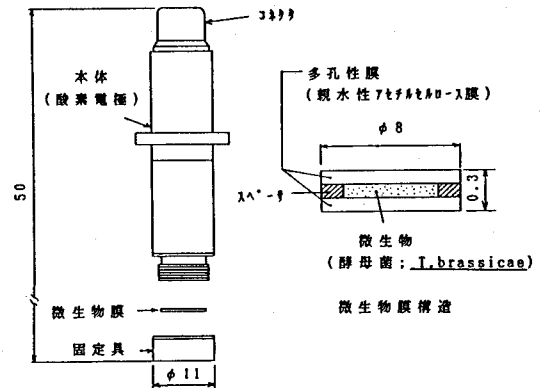


図1. 有機酸センサの構造

3. 有機酸センサの特性

センサの基本特性を把握するため、恒温水ジャケット付フローセルにセンサを取付け、ポンプにより試料または洗浄水を流すフロー測定式の試験装置を用いた。試料としては、嫌気性消化プロセスにおいて酸発酵期に生成される揮発性有機酸のうち最も多く生成される酢酸を測定対象として試験を行った。

3. 1 測定範囲と直線性

試験結果の一例を図2に示す。試料注入時間2分、流量1.2ml/分、30℃の測定条件で100~400mg/lの範囲で検量線の直線性を確認することができた。

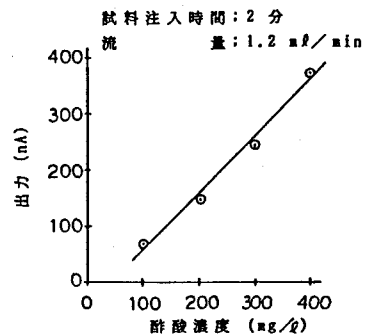


図2. 検量線の一例

3. 2 応答性

試料注入時間が2分の場合の応答例を図3に示す。立ち上がりは約2分程度であるが立ち下がりには遅くベース電流値まで完全に戻るまでには20分を要している。このように一度微生物膜内に達した酢酸が酸化されて出力に影響しなくなるまでに長時間を要する点はバイオセンサ特有の現象であると考えられる。単位時間あたりの測定回数はこの立ち下がり時間に左右されるので、これをいかに短縮するかが重要である。

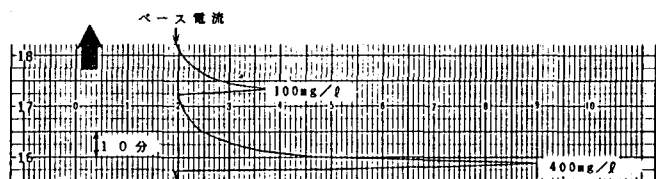


図3. 応答例 (チャート)

3. 3 温度特性

微生物センサは生化学反応を利用しているので温度依存性が高い。すなわち、常温付近では温度が上昇すると微生物の活性が高まり、呼吸による酸素消費量も多くなるため出力が大となる。従って恒温水槽などを用いて温度一定状態に保って測定を行うことが必要である。温度20~30℃で、100, 200mg/lの試料測定時の温度特性を図4に示す。このデータから、室温25℃前後の環境で使用することを考えてセンサ部の温度は30℃に保つことにした。

3. 4 pH特性

100mg/lの試料について、pHを1~7の範囲で調整し、各pHでの出力を調べた結果を図5に示す。pKa値(25℃)は4.7であるのでpH7ではイオンとして存在し、ガス化しないので出力はゼロとなっている。pHは3以下に調整して測定を行う必要がある。

3. 5 各種有機酸に対する感度

酢酸を用いて諸特性を調査してきたが、他の有機酸に対する感度を調べた結果の一例を表1に示す。酢酸に対する感度を100%としてそれぞれの比率(%)で示してある。

表1. 各種有機酸に対する感度比(酢酸を100%として)

3. 6 連続試験

30分に1回酢酸標準液を測定し、測定時以外はゼロ液を流す連続試験での検量線の経時変化を図6に示す。

4. 測定システム及びフィールドテスト

汚泥試料の前処理部まで含めた測定システムを試作した。図7に測定システムのフロー図を示す。センサの汚れ付着防止のため、測定部に導入する試料は固形分を除去する前処理が必要で、サンプリングした汚泥をUF膜によりろ過する前処理部を設けた。測定部については、必要な試料液量をできるだけ少なくするために、オートサンブラにより試料を測定セルに自動的に注入する方式を採用した。

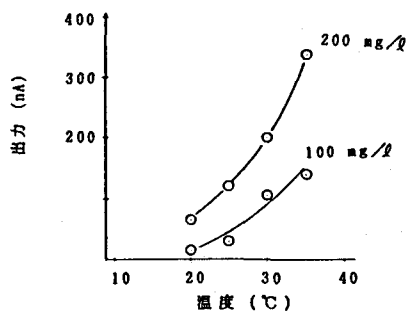


図4. 温度特性

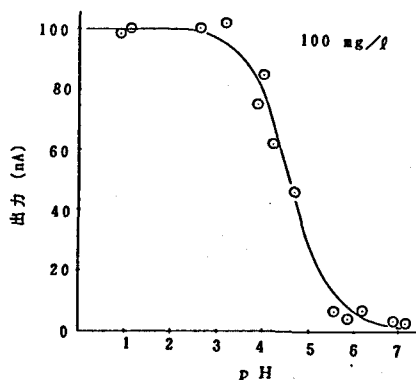


図5. pH特性

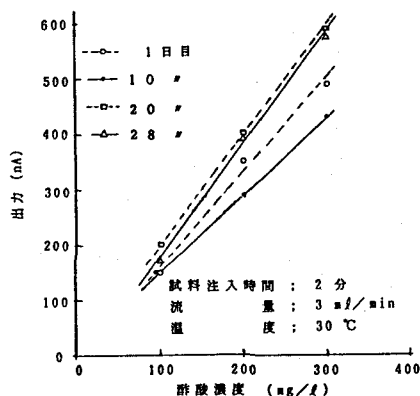


図6. 検量線の経時変化

下水処理場の汚泥消化槽からサンプリングした汚泥の有機酸濃度をこのシステムで測定し、さらにL.C法で測定して比較した結果を図8に示す。良い相関性が認められた。

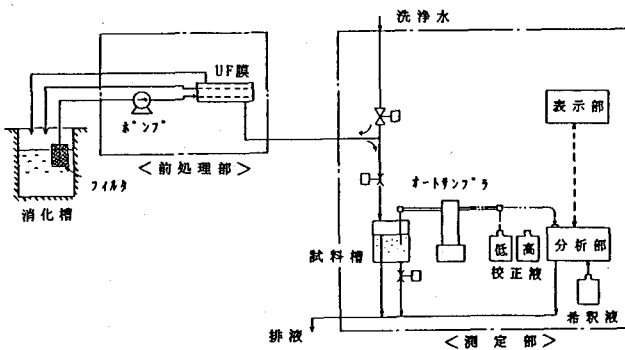


図7. 測定システム フロー図

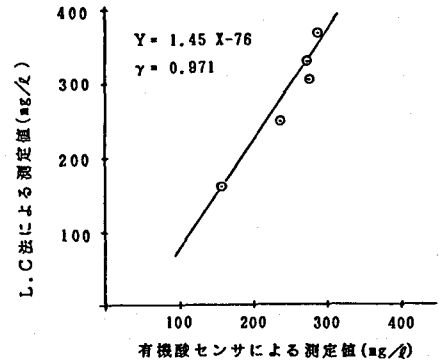


図8. L. C法による測定値との相関

下水処理場でのフィールドテストの結果明らかになった実用上の課題の主な点は下記の通りである。
また、それらの課題に対して考えられる対応策についても合わせて記す。

- (1) UF膜モジュールによる過で十分なサンプル液を得ることができるが、フィルタ部の詰りの問題が発生して、長時間UF膜まで汚泥を流すことができない点が課題であり、その対応策としてはフィルタ部の逆洗機構が必要である。
- (2) 校正液が長期間の使用中に雑菌に汚染され、変質（濃度変化）することが課題であり、その対応策としては防菌剤の添加、流れ測定方式などが考えられる。

5. あとがき

以上微生物膜を用いた有機酸センサの基本特性とそのデータに基づいて試作した測定システム及びそのフィールドテスト結果とプロセス用として適用上の課題、対策の概要について述べた。

なお、この研究は建設省土木研究所と「バイオセンサの開発に関する共同研究（プロセス監視制御用バイオセンサの開発）」として実施したものである。

〔参考文献〕

- 1) 浅野泰一, 鈴木周一, (1987), 微生物センサ, 環境と測定技術, 14, 1, 85~95
- 2) M. Hikuma, T. Kubo, T. Yasuda, I. Karube, S. Suzuki, (1979), Anal. Chim. Acta, 109, 33~38
- 3) 江藤幹愛, 小林文恵, 伊東哲, 浅野泰一, 引馬基彦, 安田武夫, 軽部征夫, 鈴木周一, (1982), 微生物センサによる酢酸の定量, 日本化学会第46秋季年会講演予稿集, 3Y09