脂質膜味覚センサにおける甘味物質の感度向上

学生員 羽 原 正 秋 (九 州 大 学)
 正 員 池 崎 秀 和 (アンリツ株式会社)
 正 員 谷 口 晃 (アンリツ株式会社)
 正 員 都 甲 潔 (九 州 大 学)

Improvement of Sensitivity to Sweet Taste Substances Using Taste Sensor with Lipid Membranes

Masaaki Habara, Student Member (Kyushu University), Hidekazu Ikezaki, Member, Akira Taniguchi, Member (Anritsu Corporation), Kiyoshi Toko, Member (Kyushu University)

A multichannel taste sensor using lipid/polymer membranes has higher sensitivities to electrolytes such as sour and salty substances than nonelectrolytes such as sweet substances. The purpose of this study is to improve sensitivity to sweet taste substances. The response to sweetness is assumed to have a mechanism different from electrolytic taste substances due to its nonelectrolyte. We could make large improvement of the response to sweetness by mixing positively and negatively charged lipid/polymer membranes and utilizing their hydrophobic property.

キーワード：味センサ、脂質膜、マルチチャネル、脂質密度、甘味物質

Keywords: Taste sensor, Lipid membrane, Multichannel, Lipid density, Sweet taste substances

1. ま え が き

食品メーカーにおける味の評価は、現在でもパネラーと呼ばれる人間が実際に味わって行う官能検査に大きく依存している。しかし、パネラーの個人差や体調等による官能データの客観性・再現性に問題があり、さらに官能検査は疲労度が大さいという問題がある。このような現状から、食品の新製品開発や製造ラインでの品質管理において、人の感じる味を検出してパネラーをサポートする味センサの開発が望まれていた。

一般に化学センサは特定の物質を選択的に拾うよう作られてきた。しかしこうした化学センサを用いて味覚を再現するには、例えばお茶やコーヒー等をみても、千種類ともいわれる味や匂い物質が含まれている。こうした化学物質を仮に全て検出したからといって、味覚や嗅覚を再現できるわけではない。また、味覚を再現するセンサでは、味物質間の相互作用（相乗効果、抑制効果）といった味覚現象を再現しなければならない。

そこで、細胞の生体膜の構成成分である脂質を利用した人工の味センサの開発が行われた^{(1)~(5)}。味センサは、生体を模倣した性質の異なる複数の脂質膜からの信号をパターン認識し、味を識別する。その概要を図1に示す。味検出に重要な働きをする脂質を高分子化合物で固定化し、呈味物

質と脂質膜との間の静電相互作用や呈味物質の物理化学的吸着による脂質膜の膜電位変化を情報として取り出す。その際、応答特性の異なる脂質膜センサから得られる複数の信号をパターン認識して味の識別を行う。

同様のパターン認識による手法は、他の味覚センサ⁽⁶⁾や匂いセンサ⁽⁷⁾⁽⁸⁾の開発でも一般的にみられ、食品やガスなどの識別が試みられている。脂質膜を用いたマルチチャネル味覚センサでは、測定方法の改良により応答再現性が向上した結果⁽⁴⁾、これまでビール、日本酒、コーヒー、牛乳、味噌、醤油等へ適用され、その銘柄差のみならずロット（製造工場、製造日）間差の識別も行うことができるようになり、官能とのマッチングも取れるようになってきている⁽⁵⁾⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾。また、新たな測定手法を加え、センサ出力から得られる情報量の次元を増やすことにより⁽¹¹⁾、緑茶、コーヒー、ビール、日本酒において、それまで1~2次元の情報量であったものが5~6次元に増加し、それら情報を元に官能評価値の重回帰分析を行うと高い相関が得られるようになった^{(12)~(14)}。これらの改良により、味センサの持つ情報量が飛躍的に向上し、味の定量化へ向けて大きく前進した。

しかしながら、従来の脂質高分子膜では、非電解質である甘味物質への感度は、電解質の味物質の感度に比較して、1/5~1/10と低く、電荷密度を極端に下げることにより、選

択性を向上させる可能性は得られたが、安定性、耐久性の面で問題があった⁽¹⁵⁾。

本研究では、脂質の疎水性及び電荷密度の調節を行うことにより、非電解質である甘味物質に対する応答感度の向上を目指した。電荷を持たない甘味物質受容のメカニズムは、電荷を持つ味物質とは異なると考えられるが、Shallenbergerらの説によると⁽¹⁶⁾、甘味受容には、甘味物質の分子及び受容体の双方にプロトンに他に与える供与基と、プロトンに他から受け取る受容基が必要である。そこで本研究では、甘味物質がプロトンに他から受け取る作用に着目して、疎水基が長く、通常はほとんど解離しない脂質を成膜材料とした。甘味物質がプロトンを受容し、この疎水性脂質のプロトン解離を促す可能性が考えられ、その結果、膜電位変化を惹起することが期待される。また、脂質の解離状態が変化した際、膜電位が効果的に変化するためには、脂質の電荷密度の調整が重要であることを既に報告している⁽¹⁷⁾⁽¹⁸⁾。そこで、脂質のプラス・マイナス電荷のバランスと密度を調整することで、この甘味物質による解離を効果的に膜電位変化に反映させることを試みた。

本研究では、従来の混合膜では応答が十分に得られなかった甘味物質に関して、上記の考えに基づき、脂質の持つ疎水性及びその電荷密度を調整することで、甘味物質に対する応答向上が得られたので報告する。

2. 実験方法

〈2・1〉測定系 測定に用いたのはアンリツ製SA402味認識装置である。図1に示すように、脂質膜電極及び参照電極間の電位差を測定し、コンピュータで解析することにより味を識別・認識するものである。本装置は8本の脂質膜センサ、センサを移動させサンプルを測定する駆動部及びパーソナルコンピュータにより構成される。一般の測定では、センサは複数の脂質膜センサの中から測定対象に合わせて選択し、8本を組み合わせ使用。脂質膜の作成は従来通り^{(1)~(5)(9)~(13)}、支持材料としてポリ塩化ビニルを用い、可塑剤（ジオクチルフェニルフォスフォネート）と脂質を混合したものである。脂質高分子膜の略称、使用した脂質及び混入量を表1に示す。

表1 使用した脂質
Table 1. List of lipids.

Lipid	Abbreviation
2C16	Phosphoric acid di-n-hexadecyl ester
TDAB	Tetradodecylammoniumbromid

使用した脂質高分子膜は、マイナス電荷を持つ脂質とプラス電荷を持つ脂質を組み合わせ作成している。また膜表面の電荷の状態をコントロールするため、phosphoric acid di-n-hexadecyl ester（以下2C16）の添加量を4.5mgに固定し、加えるプラス電荷脂質である tetradodecylammoniumbromid（以下TDAB）の量を0.25mgから4.5mgま

図1 味認識装置の概要：脂質膜電極と参照電極の電位差をアンプを通してコンピュータに取り込む。

Fig.1. Schematic diagram of taste sensor: The electrode potential difference between the multichannel electrode and the reference (Ag/AgCl with 3M KCl, saturated AgCl) was obtained by a high-input-impedance amplifier connected to a computer.

で変化させて膜を作製し、測定を行った。

2C16はマイナス電荷を持つ脂質であり、TDABはプラス電荷を持つ脂質である。膜厚は約0.2mmである。脂質膜センサの出力電位は参照電極と脂質膜電極間の電位である（図1）。

〈2・2〉測定方法 測定のアルゴリズムを図2に示す⁽¹¹⁾。サンプルを測定する前の基準液の測定値を V_r 、サンプルの測定値を V_s 、サンプル測定後の基準液の測定値を V_r' とする。基準液は、人の場合は唾液に相当し、そこからの電位変化が味信号であり、ここでは応答電位 ($V_s - V_r$) と呼ぶことにする。基準液は、無味に近く、かつセンサ出力安定化の観点から、KClと酒石酸を用いた。

サンプルを測定した前と後での基準液の測定値の変化 ($V_r' - V_r$) は、膜に呈味物質が吸着したことにより、膜の電荷密度や構造が変化したことに基因すると考えられる。人の場合に置き換えれば、例えばビールを飲んだ後もしばらく口の中に苦味が残った結果生じる後味に相当する。ここでは ($V_r' - V_r$) を CPA (Change of membrane Potential

図 2 測定手順

Fig. 2. Procedure of measurement.

caused by Adsorption) 値と呼ぶことにする。サンプルを測定した後、洗浄を行って膜への吸着物質を除去し、膜のリフレッシュを行った。今回の実験で用いた洗浄液、基準液、基本味サンプルの組成を表 2 に示す。基本味サンプルは、各基本味毎に代表的な味物質を選び、また、人の感じる味物質の濃度領域で中間の濃度を選び、基準液に各々加えた。

表 2 実験に使用した味物質

Table 2. Taste substances used in this experiment.

基準液	10 mM KCl + 0.1 mM 酒石酸
塩味サンプル	300 mM KCl + 0.1 mM 酒石酸
酸味サンプル	10 mM KCl + 0.3 mM 酒石酸
苦味サンプル	0.1 mM キニーネ + 10 mM KCl + 0.1 mM 酒石酸
旨味サンプル	10 mM MSG + 10 mM KCl + 0.1 mM 酒石酸
甘味サンプル	1 M ショ糖 + 10 mM KCl + 0.1 mM 酒石酸
	1 M ブドウ糖 + 10 mM KCl + 0.1 mM 酒石酸
	1 M 果糖 + 10 mM KCl + 0.1 mM 酒石酸
	1 M ショ糖 + 塩味サンプル
	1 M ショ糖 + 酸味サンプル
	10 % ショ糖 + 10 mM KCl + 0.1 mM 酒石酸
	10 % ブドウ糖 + 10 mM KCl + 0.1 mM 酒石酸
	10 % 果糖 + 10 mM KCl + 0.1 mM 酒石酸
	10 % エリスリトール + 10 mM KCl + 0.1 mM 酒石酸
	10 % キシリトール + 10 mM KCl + 0.1 mM 酒石酸
	10 % ソルビトール + 10 mM KCl + 0.1 mM 酒石酸

測定は、まず表 1 に示した 2C16 に対して、プラス荷電を持つ脂質である TDAB を混合させた脂質膜を用い、基本特性についての測定を行い、糖への応答感度の変化について検討を行った。

3. 実験結果

〈3・1〉 センサ出力の最適化 まず代表的な 3 種類の糖に対して測定を行った結果を図 3 に示す。横軸は混入したプラス電荷を持つ脂質である TDAB の量であり、縦軸はその時の各糖類に対するセンサ出力である。エラーバーは測定回数 (5 回) に対する誤差値 (標準偏差) である。図 3 に示すように、電荷密度の調整を行った結果、混入する TDAB が 1.25 mg 近傍で最もよく糖に反応を示すピーク値を持つことから、電荷密度を調整することにより、糖感度応答の最適化を図ることが出来た。

図 3 プラス荷電脂質混入による各種糖に対する応答感度の変化

Fig. 3. Sensitivity for sugars with changing TDAB concentration.

図 4 にセンサ出力のショ糖濃度依存性を示す。人間の官能に対するショ糖の閾値は 10 mM 以上であり、図 4 に示す結果でも、10 mM 濃度付近よりセンサ出力が得られており、センサ応答領域が人間の官能ともよく適合していることが分かる。

図 4 ショ糖に対する濃度特性

Fig. 4. Electric response to sucrose.

次に図 5 に各種基本味物質に対する応答を示す。この結果より、これまで他の味物質に比して、1/5~1/10 程度であった甘味物質の応答が飛躍的に向上しており、従来、問題であった甘味物質への応答感度の低さが改善されていることが分かる。

〈3・2〉 各種糖に対するセンサ出力と官能評価値の比較

次にセンサ出力と官能評価値について検討を行った。サンプルとして代表的な糖類の他、表 2 に示す糖アルコールについても測定を行った。図 6 において、縦軸は 10%濃度

図5 各種基本味に対する応答
Fig. 5. Electric responses to basic taste substances.

ショ糖のセンサ出力を基準に、他の糖類の応答電位を規格化したものである。横軸は10%ショ糖の甘味を1としたときの各種糖の甘味度である⁽¹⁹⁾⁽²⁰⁾。線上に近いほど、センサ出力と官能が適合していることを示している。一部の糖でやや官能とのずれがあるものの、人間の官能と比較的一致していることがわかる。

図6 センサ出力及び官能値の相関
Fig. 6. Correlation of sensor outputs with human sensory values.

次に図7に各サンプルの後味(CPA値)に関する測定結果を示す。現在開発中のセンサを用いているため、センサ出力の安定性にはまだ課題があるものの、一般に比較的后味がよいとされているエリスリトール、キシリトールなどにおいて、ソルビトールより応答が抑えられており、人間の官能と対応している可能性が考えられる。

〈3・3〉考察 電荷を持たない糖に対する応答は、これまでの電荷を持つ味物質の応答とは異なるメカニズム

図7 各種糖に対する後味測定(CPA値)
Fig. 7. CPA values for sweet taste substances.

に基因しているものと考えられる。甘味物質がプロトンを受容し、疎水性脂質の解離を促すと仮定した場合、マイナス荷電を持った脂質の疎水性の強さ、つまり解離の状態が重要な要素として考えられる。

そこで、実際に糖が膜表面でどのような役割を果たしているか検討を行うために、塩・酸特性について測定を行った。表2の塩・酸サンプル、及び、1Mショ糖+塩及び酸サンプルに関する測定結果を図8に示す。塩及び酸に対する特性を比較するために、ショ糖+塩及び酸サンプルの測定電位から、ショ糖の電位(表2における甘味サンプルの応答電位)との差分を取っている。×で示される応答は、塩味サンプルにおける応答特性を表しており、□で示した応答は1Mのショ糖を加えた塩味サンプルの測定結果である。糖を加えることにより、塩に対する応答が全体にプラス側へシフトしていることから、膜表面の電荷がマイナス化されているものと考えられる。

同様に酸味サンプルに対する応答が、図中の●である。○は同じく1Mのショ糖を加えた酸味サンプルの応答を示している。酸に対する出力が糖を加えることにより、さらにプラス方向へ変化していることから、甘味物質の存在が、マイナス荷電を持つ脂質の解離を促進させている可能性が考えられる。

ここで、図3及び図8におけるTDAB1mgを含む脂質膜の応答について考察してみる。その際、全ての電位の基準を表2の基準サンプルとする。10mM KClに対する応答電位は、ショ糖を含まないサンプルにおいては0.98mVであるのに対し、300mM KClでは-22.51mVであるから、ショ糖を含まない場合のKCl濃度増加に対してマイナス方向の応答である。次に、ショ糖を含むサンプルでは、10mM KClに対する応答電位は-37.77mVであるのに対し、300mM KClでは-35.16mVとなっている。ショ糖の存在により、10mM KClという低イオン強度では電位がマイナスとなり、しかもKCl濃度増加に対してプラス方向の応答である。

膜表面電荷と膜電位の一般的理論⁽¹⁸⁾⁽²¹⁾⁽²²⁾から、この事実はショ糖が存在しない場合においてはプラス荷電膜で

図 8 塩・酸特性

Fig. 8. Electric responses to salty and sour substances.

あったものが、ショ糖の存在により膜表面電荷がプラスからマイナスへ変化していることを意味している。これは、ショ糖により脂質の官能基における解離定数が変化することによりプロトンの解離が起こり、膜表面電荷がマイナス荷電を帯びたものと考えられる。

このときの膜中のプラス荷電脂質量と基準液でのセンサ出力電位 (V_r) の関係を図 9 に示す。図 9 より、プラス電荷を持つ脂質の量を増加させていくことにより、1.25 mg を境に出力電位がマイナスからプラスへと急峻に変化している。この電位の変化が急峻な領域では、膜表面の電荷密度が少し変化しても、脂質膜センサの出力電位に大きく変化を及ぼす⁽¹⁷⁾。糖の応答に関しても、この微小な電位変化の領域に対して、図 3 に示すように、応答感度が大きく変化している。従って、この膜表面上の電荷密度の状態と糖感度が密接な関係を持っていることが分かる。

これまでの実験から、疎水性の弱い脂質（プロトン解離しやすい）を用いて作製したセンサ膜においては糖応答が得られていない。通常、図 10 に示す膜中のマイナス荷電脂質 (2C16) はその強い疎水性のため電離していない。しかしながら、図 8 からわかるように、溶液中への糖の添加でプロトン電離が促され、その電位応答はプラス側へシフトした。このようなプロトン解離が図 4 のようなショ糖応答を可能にしたものと考えられる。

以上の結果から、甘味物質の応答には、マイナス荷電膜の疎水性の強さが重要な働きをしており、糖がその解離を促している可能性が実験結果から示唆される。

4. む す び

従来、非電荷物質である糖に対しては膜電位計測による検出は十分な出力が得ることは困難であったが、マイナス荷電を持つ脂質の疎水性、及び、これら膜中の電荷密度の

図 9 プラス荷電脂質混入による膜電位変化

Fig. 9. Membrane potential change with TDAB concentration.

図 10 Phosphoric acid di-n-hexadecyl ester (2C16) の化学構造

Fig. 10. Chemical structure of phosphoric acid di-n-hexadecyl ester (2C16).

最適化を図ることにより、甘味物質に対する応答感度が向上することが分かった。また、代替糖類である糖アルコールに対しても、十分な応答感度を持ち、かつ人間の官能にある程度対応したセンサ出力が得られることが分かった。

電荷を持たない糖に対する応答に関しては、電解質に対する応答とは異なるメカニズムに基因すると考えられる。甘味物質がマイナス荷電を持つ脂質を解離させ、結果として膜電位の変化を引き起こしていることは間違いないものの、その詳細なメカニズムは不明である。今後さらに詳細な検討を行い、応答メカニズムの解明とともに、さらなる応答感度の向上を図る予定である。また、既に脂質の親水性、疎水性及び電荷密度の調整により各味物質に対する選択性を持つ脂質膜の作製が可能となっており、他の味物質に対する甘味物質の選択性向上についても研究を行う予定である。

(平成 13 年 5 月 25 日受付, 同 13 年 8 月 17 日再受付)

文 献

- (1) K.Toko: "Taste sensor", Sens. Actuators, B64, 205-215 (2000)
- (2) K.Hayashi, M.Yamanaka, K.Toko, K.Yamafuji: "Multichannel taste sensor using lipid membranes", Sens. Actuators, B2, 205-215 (1990)
- (3) K.Toko: "Biomimetic Sensor Technology", Cambridge Univ. Press (2000)
- (4) 池崎・林・山中・立川・都甲・山藤:「人工脂質膜を用いたマルチチャネル味覚センサ」, 信学論, J74-C-II, 434-442 (1991)
- (5) Y.Arikawa, K.Toko, H.Ikezaki, Y.Shinha, T.Ito, I.Oguri, S.Baba: "Analysis of sake mash using multielectrode taste sensor", Sens. Materials, 7, 261-270 (1995)
- (6) T.Katsube, Y.Sasaki, H.Uchida: "Integrated taste sensor with a surface photo-voltage technique", Tech. Digest 13th Sens. Symp., 49-52(1995)
- (7) K.Emma, M.Yokoyama, T.Nakamoto, T.Moriizumi: "Odour-sensing system using a quartz-resonator sensor array and neural-network pattern recognition", Sens. Actuators, 18, 291-296(1989)
- (8) A.Hierlemann, U.Weimar, G.Kraus, G.Gauglitz, W.Göpel: "Environmental chemical sensing using quartz microbalance sensor arrays: Application of multicomponent analysis techniques", Sens. Mater., 7, 179-189(1995)
- (9) T.Imamura, K.Toko, S.Yanagisawa, T.Kume: "Monitoring of fermentation process of miso(soybean paste) using multichannel taste sensor", Sens. Actuators, B37, 179-185 (1996)
- (10) 飯山・池田・都甲・八尋:「マルチチャネル味覚センサを用いた醤油の味の評価」, 日本食品科学工学会誌, 44, 615-622 (1997)
- (11) 池崎・谷口・都甲:「味マルチチャネル味センサの測定方法の改良による情報量の増加」, 電気学会論文誌 E, 118, 506-512 (1998)
- (12) 斉藤・中山・池崎・中井・西澤:「味覚センサによる清酒鑑評値の推定」, 日本農芸化学会講演要旨, 313 (1995)
- (13) 池崎・谷口・都甲:「味センサを用いた緑茶の味の定量化」, 電気学会論文誌 E, 117, 465-470 (1997)
- (14) 江崎・幸・都甲・津田・中谷:「味覚センサによるビールの味質と成分の分析」, 電気学会論文誌 E, 117, 449-455 (1997)
- (15) 池崎・谷口・都甲:「脂質高分子膜の電荷密度調整による甘味物質の選択性向上」, 九州大学大学院システム情報科学研究科報告, 3, 239-243 (1998)
- (16) R.S.Shallenberger, T.E.Acree, "Molecular theory of sweet taste", Nature, 216, 480-482 (1967)
- (17) H.Ikezaki, Y.Kobayashi, R.Toukubo, Y.Naito, A.Taniguchi, K.Toko: "Techniques to control sensitivity and selectivity of multichannel taste sensor using lipid membranes", Transducers 99, 1634-1637 (1999)
- (18) K.Oohira, K.Toko: "Theory of electric characteristics of lipid/PVC/DOPP membrane in response to taste stimuli", Biophys. Chem., 2174, 1-7 (1996)
- (19) 佐藤:「味覚の生理学」, 朝倉書店, 2-6(1991)
- (20) 小俣:「美味しさと味覚の科学」, 日刊工業新聞社, 128-140(1986)
- (21) K.Oohira, K.Toko: "Electrical characteristics of Lipid/PVC/DOPP membrane and PVC/DOPP membrane used as transducers in chemical sensors", Sens. Materials, 9, 57-68 (1997)
- (22) H.Träuble, M.Teubner, P.Woolley, H.Eibl: "Electrostatic interactions at charged lipid membranes", Biophys. Chem. 4, 319-342(1972)

羽 原 正 秋 (学生員) 1995 年 3 月 金沢工業大学工学電子工学科卒業。1998 年 3 月 同大学院工学研究科修士課程修了。1999 年 4 月より九州大学大学院システム情報科学研究院博士後期課程に在学中。

池 崎 秀 和 (正員) 1984 年 3 月 早稲田大学理工学部電子通信学科卒業。1986 年 3 月 同大学院理工学研究科修士課程修了。同年 4 月 アンリツ (株) に入社。主として味センサの開発に従事。1998 年 3 月 九州大学大学院システム情報科学研究院社会人博士課程修了。工学博士。

谷 口 晃 (正員) 1966 年 3 月 群馬大学工学部電気工学科卒業。1968 年 3 月 同大学院理工学研究科修士課程修了。同年 4 月 アンリツ (株) に入社。主としてマイクロ波、ミリ波デバイスおよび光通信測定器の開発に従事。1988~1991 年米国アンリツアメリカ駐在。現在アンリツ (株) 研究所主席研究員。2000 年 3 月 九州大学大学院システム情報科学研究院社会人博士課程修了。工学博士。

都 甲 潔 (正員) 1980 年 3 月 九州大学工学部電子工学科卒業。1985 年 3 月 同大学院工学研究科博士後期課程修了。同年、同工学部電子工学科助手を経て、現在同大学院システム情報科学研究院電子デバイス工学部門電子機能材料工学講座教授。工学博士。バイオエレクトロニクスに関する研究に従事。電子情報通信学会、応用物理学会、膜学会、日本生物物理学会、味と匂学会、日本食品科学工学会、官能検査学会、日本感性工学会、日本海水学会会員。