光透過率変化を伴うモノオレイン PVC 膜 の味溶液に対するコンダクタンス特性

三澤顕次・大橋洋隆・有澤準二

北海道工業大学工学部応用電子工学科 ☎ 006 札幌市手稲区前田 7 条 15 丁目 4-1

Characteristics of Electric Conductance of Monoolein- PVC Membrane for Taste Solutions Accompanying Optical Transmittance Changes

Kenji MISAWA, Hirotaka OHASHI and Junji ARISAWA

Department of Applied Electronics, Faculty of Engineering,
Hokkaido Institute of Technology, Sapporo 006, Japan

Electrical and optical characteristics of a monoolein poly vinyl chloride (PVC) membrane with taste solutions were examined in this paper. The electric resistance and the optical transmittance of the membrane showed more than 90 times change with the concentration of NaCl solution. As electric conductances of the membrane increased with different patterns in the taste solutions such as Saccharose (sweetness), NaCl (salty), HCl (sourness), Quinine hydrochloride (bitterness), mono-Sodium L-glutamate (umami), it was proved the membrane had an electrical selectivity. Order of the detection-threshold of the membrane for the taste solutions was Quinine Hydrochloride <HCL<mono-Sodium L-glutamate<NaCl<Saccharose. This is the same order as a human taste characteristic. This paper showed also the reproducibility of the membrane conductance for the taste solutions. It was improved by decreasing an electric current value passed through the membrane. These results suggest that the monoolein PVC membrane had possibility as a taste sensing material.

Key words : monoolein PVC membrane/electric conductance/taste solution/reproducibility/taste sensing material

1. はじめに

生体の化学感覚に相当するセンサの実用化に向けて、生体膜の主要構成成分である脂質と類似の機能を発現する合成物質を用いた人工膜の研究が近年注目を集めている¹⁻³⁾。その中でも、合

成リン脂質類似物質である dioleyl phosphate (DOPH) を用いたモデル膜は、塩溶液の濃度差や圧力刺激により、生体系で見られる興奮現象と類似の電位振動現象を起こすことが見いだされている^{4, 5)}。またこの電位振動現象は、膜内の微小孔における合成脂質自身の形態変化と塩濃度勾配

Fig. 1 Schematic diagram of the apparatus in electrical measurements

との共同作用によるものとされている^{6~8)}。さらに、モノオレイン、スパン 80、トリオレインなどの合成脂質を用いた多孔質膜系では、イオン種の違いだけで、自発的かつ持続的な電位振動現象が生じると報告されている^{9, 10)}。

このように合成脂質が振動現象を引き起こす重要な役割を果たしていることから、味や匂いなどの化学量計測のために、これを用いて生体の化学受容器モデルを構築することは有効な手法といえる。この受容器モデルでは、使用する合成脂質の種類によって、機能膜が示す選択性や感度に大きな差異が出現するため、支持体を含めた膜材料が重要になる。

著者らはこれまでに、膜支持体のポリ塩化ビニル (PVC) に合成脂質のモノオレインを包含させたモノオレイン PVC 膜が、一価の塩溶液である KCl 溶液の濃度に対して、極めて大きい光透過率の変化を起こすことを見出し、高感度な光学的センサ機能膜としての可能性を有することを示唆してきた¹¹⁾。

これに引き続いて本研究では、この膜の味センシング機能を電気的および光学的に探るために、5 基本味溶液に対する膜のコンダクタンス特性と膜の光透過率特性を求めた。また、センサ機能膜では特性の再現性が大きな要素となっているため、膜の繰り返し使用と通電電流値によるコンダクタンス特性の再現性についても検討を行った。

2. 実験方法

2.1 膜作製方法

本研究では合成脂質としてモノオレイン [Monoolein : $C_{17}H_{33}COOCH_2CH(OH)CH_2OH=356.55$] を用いた。膜は Moody らの方法を参考にし¹²⁾、ここでは支持体となるポリ塩化ビニル (PVC) 0.085 g と合成脂質のモノオレイン 0.4 g を有機溶媒のテトラヒドロフラン 6 ml で溶解し、この混合液の一部 2 ml を直径 6 cm のシャーレに滴下し、27°C 一定のサーモプレート上で約 24 時間乾燥させて作製した。膜厚は精度 1 μm のデジタルマイクロメータで測定したところ $50 \pm 3 \mu m$ であった。使用する膜は、同じ実験項目では同一の直径 6 cm 大のものからそれぞれ切り出し、作製条件に起因する膜特性の差異が出ないように注意した。また、溶液温度はすべての実験で 27°C とした。

2.2 5 基本味溶液

本研究では、味を呈する溶液（以下、味溶液と呼ぶ）として、塩味に NaCl、酸味に HCl、甘味にサッカロース、苦味に塩酸キニーネ、旨味に L-グルタミン酸ナトリウム (MSG) のいわゆる 5 基本味溶液を用いた。また、これらの味溶液では、人間の唾液に相当する 1 mM KCl 溶液を溶媒とした¹⁾。なお、NaCl、HCl、サッカロース、MSG の各溶液は濃度を 1~1000 mM の範囲で調整し、また塩酸キニーネは高濃度の溶液調整が困難なため 1~50 mM の範囲とした。

2.3 測定方法

電気特性を求めるための実験装置の概略を Fig. 1 に示す。1 cm ϕ の穴を有する 2 つのアクリル製セルの間にシリコンゴムガスケットで膜を挟み、2 つのセルにはそれぞれ同濃度の味溶液を 13 ml ずつ満たす。このセルには 2 組の銀・塩化銀電極が装着されており、1 組は電流通電用として定電流電源に、もう 1 組は膜電圧計測用として差動増幅器に接続されている。また、差動増幅器には読み取りのためにデジタルマルチメータが

Fig. 2 Changes of the electrical resistance and the optical transmittance in the Monoolein PVC membrane with NaCl solution

接続してある。膜の電気抵抗およびコンダクタンスはこれらの通電電流値と膜電圧値の比から求めた。

膜の光透過率は、光路部分に開口部を有するテフロン製ホルダで膜を挟み、これを光学石英セル内に装着し、前述の各味溶液を入れて、分光光度計（日立製、100-10型）により求めた。なお測定値は、電気特性、光学特性とも、膜の応答が安定する20分後の値とした。

3. 実験結果

3.1 塩溶液濃度による膜の電気抵抗・光透過率変化

著者らはこれまでに、KCl溶液の濃度条件によって3種類の合成脂質PVC膜の電気抵抗が変化するには、同時に光の透過率変化も起こることを報告している¹¹⁾。

Fig. 2は、これと同様に、NaCl溶液の濃度に対するモノオレインPVC膜の電気抵抗特性と光透過率特性を求めた結果である。ここでは、両特性とも最大値を1として相対表示している。なお、電気抵抗特性は通電電流値を $1.0\mu\text{A}$ とし、光透過率特性は波長 700nm として求めた。電気抵抗は、溶液の濃度増加に伴って 50mM 付近から急

Fig. 3 Change of the membrane conductance with five taste solutions

激に減少を始め、最終濃度の 1000mM で初期値の $94\frac{1}{10}$ にまで低下した。一方、光透過率は、これとは反対に溶液濃度約 50mM から急激に増加し、最終濃度の 1000mM では初期値の 91 倍になった。このように、モノオレインPVC膜は、KCl溶液のみならず、NaCl溶液でも同様に、電気抵抗と光透過率の変化を起こすことが確認された。

3.2 5基本味溶液に対する膜のコンダクタンス特性

次に、Fig. 3は5種類の味溶液に対するモノオレインPVC膜のコンダクタンス特性を求めた結果である。なお、ここでは3.1節と同様に、通電電流値は $1.0\mu\text{A}$ とした。

まず、初期濃度 1mM におけるコンダクタンス値を各味溶液ごとに比較すると、HClが $0.348\mu\text{S}$ 、NaClが $0.378\mu\text{S}$ 、MSGが $0.393\mu\text{S}$ 、サッカロースが $0.345\mu\text{S}$ 、塩酸キニーネがこれらよりやや大きい $0.736\mu\text{S}$ であり、いずれも同じ桁の数値である。しかし、溶液濃度が増加すると、各味溶液に対するコンダクタンス特性には明確な差異が出現した。具体的には、塩酸キニーネでは、他の味溶液とは異なり、初期濃度の 1mM から既

Fig. 4 Reproducibility of the membrane conductance for Saccharose solution ($I=1.0 \mu A$)

Fig. 6 Reproducibility of the membrane conductance for MSG solution ($I=1.0 \mu A$)

にコンダクタンスの増加が見られ、その後急激な上昇を示している。これに対し、HCl、NaCl、MSG では 50 mM 付近から増加を始め、最終濃度の 1000 mM ではそれぞれ異なるコンダクタンスの値を示した。また、サッカロースでは全体的に変化がわずかであった。なお、コンダクタンスの最終値は、塩酸キニーネが初期値の 712 倍の 524 μS 、HCl が 185 倍の 64.3 μS 、NaCl が 94.2

Fig. 5 Reproducibility of the membrane conductance for NaCl solution ($I=1.0 \mu A$)

倍の 35.6 μS 、MSG が 27.7 倍の 10.9 μS 、サッカロースが 2.58 倍の 0.890 μS となり、各味溶液で大きく異なっていた。

一般に、ヒトの味覚閾値（味を感じ始める濃度）は、塩酸キニーネが 0.008 mM、HCl が 0.9 mM、MSG が 6 mM、NaCl とサッカロースが 10 mM といわれている¹³⁾。一方、本研究で用いたモノオレインPVC膜の閾値濃度（コンダクタンスが変化を始める濃度）は、低い方から塩酸キニーネ（1 mM以下）<HCl（1 mM）<MSG（10 mM） $\leq$ NaCl（10 mM）<サッカロース（25 mM）の順になっていた。このように、モノオレインPVC膜は5種類の味溶液に対してそれぞれ異なるコンダクタンス特性を示し、またその閾値濃度の順序はヒトの場合と定性的に符合していた。

3.3 膜コンダクタンス特性の再現性

一般にセンサの機能膜には、特性の良好な再現性が要求される。この観点から、ここでは各味溶液に対する同一膜の繰り返し使用による特性の再現性について検討した。この場合、膜はいったん高濃度までの特性を求めた後、1 mM の KCl 溶液に約 24 時間浸してから、繰り返し使用した。また通電電流値は、3. 1、3. 2 節と同様に、1.0 μ

Fig. 7 Reproducibility of the membrane conductance for MSG solution ($I=0.5 \mu A$)

Fig. 8 Reproducibility of the membrane conductance for MSG solution ($I=0.1 \mu A$)

Fig. 9 Reproducibility based on measure electric current in each taste solution

A とした。

Fig. 4～Fig. 6 は、それぞれ味溶液のサッカロース、NaCl、MSG に対する膜コンダクタンス特性の再現性を求めたもので、その代表例である。なお各味溶液では、初期コンダクタンスの値に若干の相違があったので、比較のためにコンダクタンスは相対表示とした。どの味溶液でも、繰り返

し測定によって特性が高コンダクタンス側へ移動するという共通の傾向を示したが、その再現性には大きな違いが見られた。

まずサッカロース溶液では、繰り返し測定による特性の変動が極めて少なく、良い再現性が得られた。次に NaCl 溶液では、測定回数の増加に伴い初期値も最終値も徐々に上昇し、特性は高コンダクタンス側へほぼ平行移動する傾向を示した。一方 MSG 溶液では、特性が高コンダクタンス側へ平行移動するという点では NaCl 溶液と同様な傾向を示したが、濃度操作 1 回目の 1 mM 時の初期値に対する 4 回目の初期値の倍数が 9.56 倍と他の味溶液に比べて大きなものとなった。なお、サッカロース溶液ではこれが 1.71 倍であり、NaCl 溶液では 2.48 倍であった。

このように、膜コンダクタンス特性の再現性では、測定の繰り返しで特性が高コンダクタンス側へ平行移動する傾向を示し、その度合いは各味溶液で異なることが判明した。

3.4 通電電流値とコンダクタンス特性の再現性

さきの 3.3 節では、3 種類の味溶液に対する膜コンダクタンス特性の再現性を求めたが、これら

Fig. 10 Structural model of the Monoolein PVC membrane

はいずれも通電電流値が $1.0 \mu\text{A}$ の条件であった。ここでは、特性の再現性向上を目的として、測定時の電流値を $1.0 \mu\text{A}$ から $0.5 \mu\text{A}$ および $0.1 \mu\text{A}$ へと低減させ、その効果について検討してみた。次に、5つの味溶液の代表例として、MSG 溶液に対する結果を Fig. 7 と Fig. 8 に示す。

前節 Fig. 6 の電流値 $1.0 \mu\text{A}$ では、4回の測定におけるコンダクタンスの初期値の変動が 9.56 倍であった。これに対し、Fig. 7 の電流値を半減させた $0.5 \mu\text{A}$ では、この初期値の変動が 1.96 倍に抑制された。さらに、Fig. 8 のように、電流値を $0.1 \mu\text{A}$ へ低減させると、この変動幅は $1.0 \mu\text{A}$ 時の約 7 分の 1 である 1.38 倍にまで減少し、比較的一致した特性になった。

また、MSG 以外の味溶液でも、程度は異なるものの、電流値の低減でこのような再現性の向上が見られた。そこで各味溶液における通電電流値と特性の再現性の関係を Fig. 9 のようにまとめた。ここで、横軸は通電電流値を、縦軸は 4 回の測定における初期コンダクタンスの変動倍数を表している。

まず、電流低減の効果が顕著に現れた塩酸キニーネ溶液では、 $1.0 \mu\text{A}$ 時の初期値の変動が 13.3 倍であったのが、電流値の低減に伴って、 $0.5 \mu\text{A}$ で 7.39 倍、 $0.1 \mu\text{A}$ で 3.49 倍と大幅に抑制され、これらの関係はほぼ直線となった。次に

HCl 溶液では、 $1.0 \mu\text{A}$ から $0.5 \mu\text{A}$ への電流低減により、初期値の変動が 5.22 倍から 2.10 倍に、また NaCl 溶液では同様に 2.48 倍から 1.21 倍とそれぞれ抑制された。電流値をさらに $0.1 \mu\text{A}$ へ低減した場合には、変動倍数は $0.5 \mu\text{A}$ 時と大きな変化はなく、HCl で 2.02 倍、NaCl で 1.23 倍となった。なお、サッカロース溶液では、初期値の変動は電流値とほぼ無関係になり、 1.0 、 0.5 、 $0.1 \mu\text{A}$ でそれぞれ 1.71、1.69、1.15 倍と他の味溶液と比較して変動が最も小さく、非常に高い再現性が得られた。

以上のように、通電電流値の低減で、膜の繰り返し測定におけるコンダクタンスの初期値変動が抑制されることが判明し、またその効果は各味溶液で異なっていた。

4. 検 討

一般に脂質分子は、極性を有する親水基と無極性である疎水基の両者からなる化合物であり、同一分子内での親水基と疎水基の相対的な強さのバランスによってその物理・化学的な性質が支配される¹⁴⁾。このため溶媒の極性によって脂質分子の集合状態が変化し、油滴、球状ミセル、脂質二分子層などになることが知られている¹⁴⁾。

一方、合成脂質の DOPH を用いたモデル膜は、一価の塩溶液濃度約 40 mM を境に、それ以下の濃度では数 $\text{M}\Omega$ の高抵抗状態に、それ以上の濃度では数 $\text{k}\Omega$ の低抵抗状態になる^{4, 6)}。これは、溶液濃度の増加により、DOPH 分子の集合状態が油滴からミセル、ラメラ相（脂質二分子膜の多層状態）などの各状態に移行し、この順に膜の抵抗値も低下するためとされている^{6, 7, 8, 14)}。

小島らの PVC・DOPH 人工膜の表面構造写真や¹⁵⁾、梶山の高分子／液晶複合膜の表面および断面の走査型電子顕微鏡写真などを参考にすると¹⁶⁾、本研究で用いたモノオレイン PVC 膜は Fig. 10 に示すような構造であると考えられる。つまり、PVC マトリクス内に形成された無数のポアに、合成脂質のモノオレインが連続相として三次元的に組み込まれた構造であるといえる。

Fig. 11 Condition of the Monoolein molecules in the pore
(a) High resistance state.
(b) Low resistance state.

モノオレイン PVC 膜は、Fig. 2 で示したように、塩溶液の濃度に対して電気抵抗および光透過率が 90 倍以上も変化した。この特性では、その変化過程を高抵抗で光透過率の低い疎水性領域（濃度 10 mM 以下）、低抵抗で光透過率の高い親水性領域（250 mM 以上）、そしてこれらの中間的な領域の 3 領域に区分することができる^{6, 11)}。次に、ポアの内部を想定した Fig. 11 を用いて、Fig. 2 で見られた電気抵抗の変化を脂質分子の状態と関連づけて考察する。溶液が低濃度の場合、(a) のように、PVC 内の無数のポアに存在しているモノオレインは油滴の状態でポアを塞ぎ、膜は高抵抗の状態となる。しかし、溶液濃度が上昇すると、(b) のように、溶液中の陽イオンの影響でポア内のモノオレインの油滴がミセルや二分子層の状態へ構造変化を起こし¹⁴⁾、膜抵抗は低下する。つまり、この膜の電気抵抗は、前述した DOPH 分子の変化機構と同様に、脂質自身の構造変化により起こるものと考えられる。

膜の光透過率変化も、電気抵抗の場合と同様に、モノオレイン自身の構造変化によって出現したものと推測される。すなわち、高分子の PVC の中

にミセルのような分散粒子が存在し、その大きさが光の波長オーダーであれば、光散乱が生じ、膜の光透過性も低下する¹⁷⁾。また、ミセルからラメラ相などへ分子の配向状態が変化し、PVC と脂質の屈折率がほぼ等しくなると、光散乱は大幅に抑制され、その結果として膜の光透過性が良くなる¹⁷⁾。

次に、モノオレイン PVC 膜は、Fig. 3 のように、5 種類の味溶液に対してそれぞれ異なるコンダクタンス特性を示し、明らかな選択性を有していた。一方、DOPH を用いたモデル膜では、溶液濃度に対するその抵抗変化がイオン種によって異なることが確認されている^{6, 15, 18)}。本研究で用いたモノオレインは溶液中で親水基の H を解離して負に荷電する性質を有しており、この負電荷に味溶液中の陽イオンが吸着して親水基間の静電反発力を減少させるため、Fig. 11 (b) のように、相対的に疎水基間の van der Waals 力が上まわり、より安定した脂質二分子構造をとるものと考えられる¹⁹⁾。この膜構造では、陽イオンの種類によって負電荷に対する作用も異なることになり²⁰⁾、このためコンダクタンス特性に違いが出たものといえる。また非電解質のサッカロースは、コンダクタンス特性に大きな影響を与えるような脂質分子の形態変化に移行しなかったものと考えられる。このように、モノオレイン PVC 膜のコンダクタンス特性は、脂質分子の形態変化と密接に関連する種々の陽イオンの影響に強く依存している。

このようなコンダクタンス特性の再現性については、Fig. 4～Fig. 6 のように、どの味溶液においても、測定回数の増加によって、特性が高コンダクタンス側へ移行する傾向を示し、またその度合いは各味溶液で大きな違いを示した。これは、膜の表面近傍に存在していたモノオレインが、繰り返しの濃度操作と電流通電によって、一部溶液に流出したために出現したものと思われる。

この通電電流値を低減させると、Fig. 9 のように、各味溶液に対する特性の再現性が向上した。これは、上述した溶液へのモノオレインの流出が、通電電流の低減で抑制されたためと考えられる。

また Fig. 9 では、各味溶液によって特性の再現性が異なっていたが、次にその原因について考察する。電流値が $0.1 \mu\text{A}$ の時に、初期コンダクタンスの変動が小さいものから順に並べると、サッカロース(1.15 倍) < NaCl(1.23 倍) < MSG (1.38 倍) < HCl (2.02 倍) < 塩酸キニーネ (3.49 倍) であった。

ここでは、 Na^+ を有する NaCl, MSG 溶液が比較的良い再現性を示しているが、 H^+ を含む HCl, 塩酸キニーネ溶液は他の味溶液と比べて再現性が劣っている。これは、膜に対する陽イオンの吸着様式の違いに起因するものと思われる²⁰⁾。ミリポア DOPH 膜系では、 H^+ は脂質への結合率が高い、いわゆる吸着型の結合であるのに対し、 Na^+ は水分子で分離されるために、脂質に対して強い結合は示さないとされている¹⁸⁾。また、 H^+ を含むものでも、HCl は脂質に吸着するが脱着も容易に生じ、膜の応答性はある程度回復する¹⁾。一方、塩酸キニーネは高濃度で膜に作用させると脱着が難しく、特性が完全に再現されない¹⁾。このようなモノオレインに対する味溶液の作用機構の違いにより、それぞれ異なる再現性を示したものと考えられる。

なお、モノオレイン PVC 膜の応答特性は、NaCl や MSG, サッカロース溶液では、一定になるまでに約 20 分を要したが、塩酸キニーネでは約 2 分ほどで一定値に達し、他の味溶液に比べて早い応答を示した。また、著者らは最近、PVC を柔軟にさせる可塑剤を膜に混入することで、応答時間が短縮されることを確認しており、この結果は別の機会に報告する予定である。

5. おわりに

本研究では、合成脂質のモノオレインとポリ塩化ビニルからなるモノオレイン PVC 膜の味溶液に対するコンダクタンス特性と光透過率特性について検討した。その結果この膜では、塩溶液の濃度に対して、電気抵抗と光透過率の双方が 90 倍以上も変化するという、これまでにない非常に興味深い特性が見出された。また、詳細なコンダク

タンス特性の検討から、この膜は 5 種類の味溶液に対してそれぞれ異なる応答性を示し、イオンセンサ機能膜としての可能性が示唆された。さらに、通電電流値を低減することで特性の再現性が向上することも確認された。今後は、このモノオレイン PVC 膜の時間応答特性も考慮に入れ、電気・光学的なイオンセンサとしての応用を目指してさらに検討したい。

最後に、御討論いただいた本学、松本伍良名誉教授に感謝する。

文 献

- 1) 池崎秀和, 林健司, 山中章己, 立川理江子, 都甲潔, 山藤馨: 信学論 (C), **J 74-C (5)**, 434 (1991)
- 2) 山川進三, 山口晃史: 電学論 C, **112 (12)**, 798 (1992)
- 3) 謝世明, 中本高道, 森泉豊栄: 電学論 C, **113 (4)**, 284 (1993)
- 4) N. Kamo, T. Yoshioka, M. Yoshida, T. Sugita: *J. Membrane Biol.*, **12**, 193 (1973)
- 5) J. Arisawa, T. Furukawa: *J. Membrane Sci.*, **2**, 303 (1977)
- 6) 三澤顕次, 有澤準二: 膜, **11 (5)**, 297 (1986)
- 7) 三澤顕次, 有澤準二: 膜, **12 (1)**, 42 (1987)
- 8) 都甲潔, 山藤馨: 膜, **12 (1)**, 12 (1987)
- 9) T. Ishii, Y. Kuroda, K. Yoshikawa, K. Sakabe, Y. Matsubara, K. Iriyama: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **123 (2)**, 792 (1984)
- 10) K. Yoshikawa, K. Sakabe, Y. Matsubara, T. Ota: *Biophys. Chem.*, **21**, 33 (1985)
- 11) 三澤顕次, 有澤準二: 電学論 C, **113 (5)**, 364 (1993)
- 12) G. J. Moody, R. B. Oke and J. D. R. Thomas: *Analyst*, **95**, 910 (1970)
- 13) R. F. Schmidt (岩村吉晃, 他訳): “感覚生理学”, (1989) 金芳堂
- 14) 中垣正幸: “膜物理化学”, (1987) 喜多見書房
- 15) 小島洋一郎, 有澤準二, 三澤顕次, 松本伍良: 膜, **19 (5)**, 325 (1994)
- 16) 梶山千里: 応用物理, **62 (10)**, 985 (1993)
- 17) 森泉豊栄・吉野勝美・森田慎三・岩本光正: “有機エレクトロニクス”, (1994) 電子情報通信学会
- 18) 飯山悟, 都甲潔, 山藤馨: 膜, **12 (4)**, 231 (1987)
- 19) 嶋林三郎・寺田弘・岡林博文: “生体コロイド I”, (1990) 廣川書店
- 20) 松本元: “神経興奮の現象と実体 (下)”, (1982) 丸善

(受付日 1995 年 5 月 17 日)