

## 脂質膜を用いたエタノールセンサの開発

井上, 貴宏

九州大学大学院システム情報科学府電子デバイス工学専攻 : 修士課程

岩倉, 宗弘

九州大学大学院システム情報科学研究院電子デバイス工学部門

都甲, 潔

九州大学大学院システム情報科学研究院電子デバイス工学部門

<https://doi.org/10.15017/1515839>

---

出版情報 : 九州大学大学院システム情報科学紀要. 8 (1), pp.85-89, 2003-03-26. 九州大学大学院システム情報科学研究院

バージョン :

権利関係 :

## 脂質膜を用いたエタノールセンサの開発

井上貴宏\*・岩倉宗弘\*\*・都甲 潔\*\*

### Development of Ethanol Sensor Using Lipid Membranes

Takahiro INOUE, Munehiro IWAKURA and Kiyoshi TOKO

(Received December 13, 2002)

**Abstract:** A taste sensor utilizes lipid/polymer membranes for measuring taste. The sensor was improved to measure ethanol concentration. First, experiments were made about the responses to ethanol using a negatively charged lipid/polymer membrane and the positively charged lipid/polymer membrane. As a result, we found that a TDAB membrane has a higher response to ethanol than a 2C10 membrane. Next, the ethanol concentration of sake was measured using the characteristic of the above-mentioned membrane. Consequently, there was about 2% of measurement errors. Finally, measurement errors were nearly zero when pretreated with ion-exchange resin to the sample.

**Keywords:** Ethanol, Lipid/polymer membranes, Taste sensor, Fermentation monitoring, Ion exchange resin

#### 1. ま え が き

人間には五感と呼ばれる外界の情報をキャッチする感覚がある。センサはこの感覚を人工的な方法により代行させるものであり、人の持つ主観的かつ曖昧な感覚を定量化する目的で作られている<sup>1)</sup>。

近年の科学技術の発展に伴って、物理的感覚と呼ばれる視覚、聴覚、触覚については、既に人間のものと同等、あるいはそれ以上の機能を持つトランスデューサが実現されているが、化学的感覚と呼ばれる味覚、嗅覚に対応するセンサ(化学センサ)はまだかなり劣った状態にある。化学センサでも物理センサと同様に物質選択性が重要視されたものは多数存在しているが、化学的感覚は物理的感覚のような単一の量ではなく、非常に多種類の化学物質を複合的に受容しているため、選択性の高いセンサで味覚をセンシングするには、全ての味物質に対応したセンサを用意しなければならず現実的でない。

そこで、味覚センサを構築するには、生体系における味受容機構を模倣することが一番の近道と思える。生体系では、タンパク質を組み込んだ脂質二分子膜からなる受容膜で味が受容される<sup>2)</sup>。この生体機構を模倣して味そのものを出力情報として持つように開発されたのがマルチチャネル膜電位計測型味覚センサ(以降、味覚センサと略す)である<sup>1)</sup>。味覚センサでは、8種類の脂質膜をトランスデューサとして用いているので、多様な味の情報を8つの電気信号に変換するマルチチャネル型となっている。この味覚センサにより、ビールやコーヒーなどの食品の

味の識別が行われてきた<sup>3)</sup>。また、この味覚センサを用いて日本酒の味の識別がなされ<sup>4)</sup>、さらに清酒もろみにおいてプラス荷電膜電極の出力とエタノール濃度との間に良好な相関性が認められることが報告されている<sup>5)</sup>。つまり、味覚センサを簡便なエタノールセンサとして使うことも可能である。

現在、清酒や焼酎もろみのアルコール濃度測定には比重測定法が用いられている。しかし、これには蒸留操作が必要なため、少なからず時間と労力を要する。一方、酵素センサやガスクロマトグラフ(GC)等の使用も可能であるが、装置が比較的高価なこと、また煩雑なメンテナンスが必要なことなどから小規模な酒造場では普及にいたっていない。以上のような事情で、清酒業界では迅速で簡便な測定方法が求められている。

上述のように、最近、脂質膜を用いたエタノールセンサの開発が行われ、その結果、プラス荷電膜のエタノール応答は、エタノール濃度の増加による塩化物イオンの活量変化に起因することが示唆されている<sup>6)</sup>。しかし、そのエタノールセンサは、日本酒などの測定の際に、夾雑物質に大きく影響を受け、誤差が大きくなるという傾向があった。

本研究では、エタノール濃度の測定に最適な脂質膜を見つけるために、陰イオンの活量変化に起因するプラスに荷電した膜のみでなく、陽イオンの活量変化を反映すると考えられるマイナスに荷電した膜の基礎特性について実験、ならびに考察を行った。また、その結果を用い、市販されている日本酒のエタノール濃度の測定を数種類の方法で行った。

平成14年12月13日受付

\* 電子デバイス工学専攻修士課程

\*\* 電子デバイス工学部門

Table 1 List of lipids.

Charge	Channel	Lipid	Amount of addition	Plasticizer	Amount of addition
-	2C10	2C10	100 mg	DOPP	1 ml
+	TDAB	TDAB	50 mg	DOPP	0.6 ml
	NPOE	TDAB	25 mg	NPOE:DOPP=8:2	1 ml
	n-DA	TDAB	40 mg	n-DA:DOPP=6:4	0.6 ml

## 2. 実験装置

### 2.1 SA402味認識装置

測定には、アンリツ製SA402味認識装置を用いた。その概形をFig.1に示す。この装置は検出部、ハンドラー部、データ処理部より構成される。検出部では、それぞれ脂質膜を貼った8本のセンサプローブと参照電極とのセンサ部で脂質膜の膜電位を検出する。ハンドラー部では、ロボットがパソコンからの制御により自動測定を行う。また、データ処理部では、検出器からのデータをA/D変換してパソコンに取り込む。

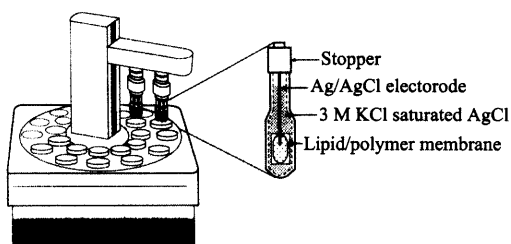


Fig.1 A taste-sensing system (SA402, Anritu Corp.) and detecting electrode with lipid/polymer membranes.

センサプローブはプローブ本体、脂質膜、Ag/AgCl電極、内部液(3 M KCl飽和AgCl)、電極端子から構成されており、参照電極はプローブ本体、Ag/AgCl電極、内部液(3 M KCl飽和AgCl)、電極端子、100 mM KCl寒天から構成されている。

### 2.2 脂質膜

味覚センサでは、支持材のPVC(ポリ塩化ビニル)に可塑剤と脂質を混ぜて作成した脂質膜をその受容部に使用している。PVCは、安定性、成形の容易さ、取り扱い易さの点で優れているためイオン選択性電極の支持材としても用いられている。

脂質膜はPVCと可塑剤の混合比を変えることにより、その性質を軟質あるいは硬質と変化させることができるので、用途に応じて使い分けることが可能である。

本研究に用いた脂質膜をTable 1に示す。用いた脂質のうち、2C10(Phosphoric acid di-n-decyl ester)は負

に帯電、TDAB(Tetradodecylammoniumbromid)は正に帯電であることから、これらの脂質膜をそれぞれマイナス荷電膜、プラス荷電膜と呼ぶこととする。可塑剤にはDOPP(Dioctyl phenyl-phosphonate)、NPOE(Nitrophenyl octyl ether)、n-DA(n-Decylalcohol)を用いた。

脂質膜は次のようにして作製した。

1. THF(テトラヒドロフラン)5 mlに脂質及び可塑剤を加え、スターラーで30分攪拌する。
2. THFを5 ml加え、さらに30分攪拌する。
3. PVC800 mgを入れて1時間攪拌する。
4. 溶液をシャーレ(内径8.5 cm)に移し、ドラフト内にて3日間乾燥させ、THFを揮発させる。

### 2.3 測定手順

測定手順をFig.2に示す。まず膜電極を洗浄液で洗浄した後、基準液の絶対電位( $V_r$ )を測定する。この電位と一定時間に測った基準液の絶対電位との差が十分小さくなるまで基準液の測定を繰り返す。これを安定判別と呼び、電位の差が0.50 mV以下になるまで測定を繰り返した。基準液での測定が安定した後、サンプルの絶対電位( $V_s$ )を測定する。測定する電位は絶対電位( $V_s$ )及び応答

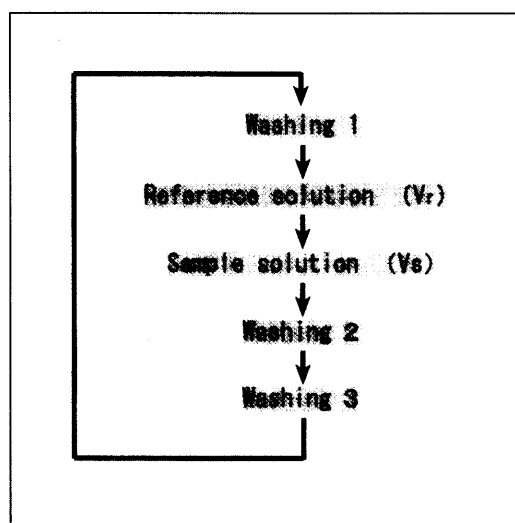


Fig.2 Procedure of measurement.

電位( $V_s - V_r$ )である。この測定をサンプルの数だけ繰り返す。電位は膜電極が溶液中に浸漬されて10秒後の電位を使用する。基準液、洗浄液は50 mM KClを用いた。測定は、ローテーションを4回行い、後の3回の応答電位の平均値、標準偏差をデータとして用いた。

### 3. 実験結果

#### 3.1 2C10膜電極のエタノール応答

2C10膜電極を用いて、5%、10%、15%、20%、25%の5種類のエタノール濃度に対して、それぞれKCl濃度1 mM、10 mM、100 mM、1 Mの4通りのサンプル、つまり計20通りのサンプルに対する応答を測定した。結果をFig.3に示す。

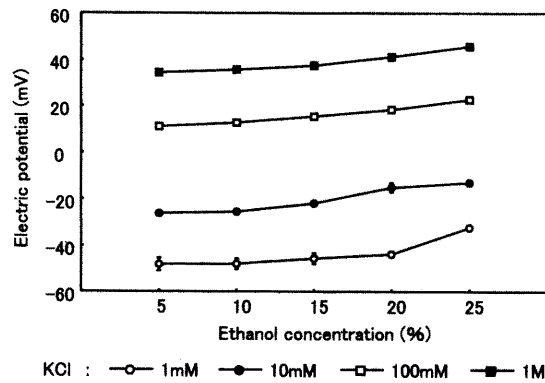


Fig.3 Response of 2C10 membrane to ethanol.

2C10膜はエタノール濃度の増加により、応答電位が上がる事が分かる。また、KClの濃度が100 mM以上のときに、エタノールに対する応答は直線性を示す。

#### 3.2 TDAB膜電極のエタノール応答

TOMA膜電極の各KCl濃度のエタノールに対する応答をFig.4に示す。

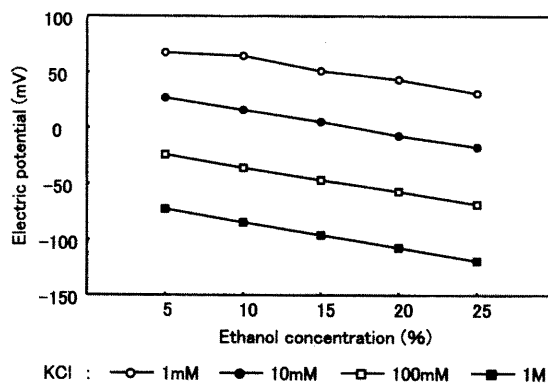


Fig.4 Response of TDAB membrane to ethanol.

TDAB膜はエタノール濃度の増加により、応答電位が下がる事が分かる。また、KClの濃度が10 mM以上のときに、エタノールに対する応答は直線性を示す。

#### 3.3 2C10膜電極のpH変化に対する応答

日本酒は醸造過程においてpHが変化するため、脂質膜のpH応答を調べた。サンプルは、15%エタノール水溶液にKClを100 mMとなるように添加したのを用い、酒石酸を投入して、pHを5段階に調整した。結果をFig.5に示す。

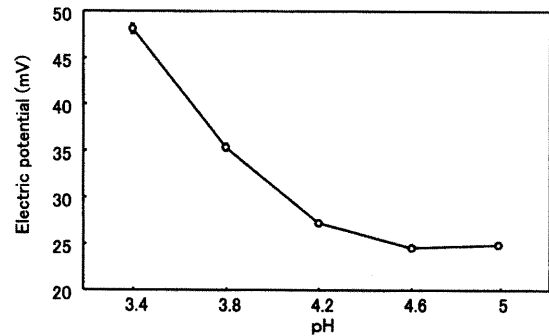


Fig.5 Response of 2C10 membrane to each pH.

2C10膜はpHの変化に対して、応答電位が大きく変化することが分かる。よって、2C10膜をエタノールセンサに用いる場合には、pHによる応答電位の違いを考慮しなければならない。その方法として、pHメーターを用いる方法、緩衝剤をサンプルに入れる方法などが考えられる。

#### 3.4 TDAB膜電極のpH変化に対する応答

TDAB膜のpH応答をFig.6に示す。TDAB膜はpHが変化しても、応答電位はほとんど変化しない事が分かる。このことは日本酒のエタノール濃度を測定する際に大きな利点となる。

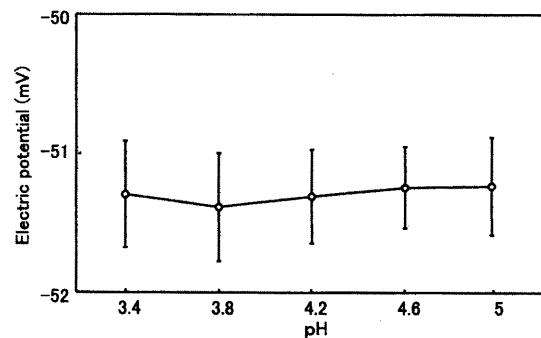


Fig.6 Response of TDAB membrane to each pH.

### 3.5 2C10膜とTDAB膜の基礎特性に関する考察

以上の結果をまとめたものを **Table 2** に示す。

**Table 2** Slope of responses to ethanol.

KCl concentration(mM)	1	10	100	1000
2C10	0.72	0.74	0.58	0.56
TDAB	-1.89	-2.23	-2.21	-2.31

2C10膜とTDAB膜のエタノールに対する傾き (mV/%)を比較すると、**Table 2**から分かるように、TDAB膜は2C10膜に比べ、エタノールに対する応答が大きいことが分かる。またTDAB膜は、pHが変化しても、応答電位がほとんど変わらないことから、pHに対する校正を行わずに済む。以上の結果から、エタノールセンサに使用する膜としてTDAB膜を採用した。

### 3.6 TDAB膜による日本酒のエタノール濃度推定

TDAB膜を用いて、日本酒のエタノール濃度推定を行った。濃度推定には、(1)式を用いた。

$$E = a[\text{ethanol}(\%)] + b \quad (1)$$

未知数  $a$ ,  $b$  を求めるための校正液として10%と20%のエタノール水溶液を使用した。また日本酒に含まれる夾雑物質の影響を小さくするため、校正液、サンプルはKCl濃度が100 mMとなるようにKClを添加した。結果を **Table 3** に示す。実験結果より、誤差が2%程度あることが分かる。

**Table 3** Measurement of ethanol in sake(1).

Sample No.	Using lipid membrane (%)	Labeled (%)
1	17.37	15~16
2	17.68	15.3
3	17.75	15~16

### 3.7 NPOE膜, n-DA膜を用いた日本酒のエタノール濃度推定

上記の結果より、TDAB膜だけで、日本酒のエタノール濃度を推定するのは難しいことが判明した。そこで、2本の電極を用いて、エタノール濃度を推定する方法を試みた。2本の電極から得られたデータを用い、(2)式の連立方程式を解くことにより、エタノール濃度を推定する。

$$\begin{cases} E_1 = a[\text{ethanol}(\%)] + b[\text{Cl}^-] + c \\ E_2 = d[\text{ethanol}(\%)] + e[\text{Cl}^-] + f \end{cases} \quad (2)$$

ここで、可塑剤としてエーテル系化合物、もう一方にアルコール系化合物を用いると、係数  $a$  と  $d$  の差が最大になることが知られている<sup>6)</sup>。今回の実験では、2本の電極として、可塑剤にエーテル系化合物のNPOEを用いたNPOE膜、アルコール系化合物のn-DAを用いたn-DA膜を使用した。各電極のエタノールに対する係数  $a$ ,  $d$  を **Table 4** に示す。

**Table 4** Coefficient of ethanol concentration.

Channel	Coefficient of ethanol concentration
NPOE	-3.22
n-DA	-0.46

未知数  $a$ ,  $b$ ,  $c$ ,  $d$ ,  $e$ ,  $f$  を求めるための校正液として **Table 5** に挙げる3種類を用意した。また日本酒に含まれる夾雑物質の影響を小さくするため、サンプルはKCl濃度が100 mMとなるようにKClを添加した。結果を **Table 6** に示す。

**Table 5** Calibration solution.

No.	Etanol(%)	KCl(mM)
1	10	100
2	20	100
3	20	300

**Table 6** Measurement of ethanol in sake(2).

Sample No.	Using lipid membrane (%)	Labeled (%)
1	18.19	15~16
2	18.66	15.3
3	17.93	15~16

実験結果より、電極を2本用いた場合においても、誤差が2~3%あることが分かる。

### 3.8 イオン交換樹脂を用いたサンプルの前処理

上述のように、膜の改良、エタノール濃度推定方法の改良を行ったが、誤差を小さくすることは出来なかった。そこで、サンプルの前処理をすることを検討した。前処理の方法として、陽イオン交換樹脂と陰イオン交換樹脂が混合されているモノベッティオン交換樹脂MB-1(オルガノ)を用いた。サンプルの作成方法を以下に示す。

1. 日本酒とMB-1をビーカー内で攪拌する。
2. ビーカー内の試料をろ過し、液体のみを取り出す。
3. 取り出した液体に、KCl濃度が100 mMとなるようにKClを添加する。

NPOEとn-DAの2本の電極を用い、以上のように作製されたサンプルのエタノール濃度を推定した結果を、Table 7に示す。

Table 7 Measurement of ethanol in sake(3).

Sample No.	Using lipid membrane (%)	Labeled (%)
1	15.02	15~16
2	15.44	15.3
3	14.91	15~16

Table 7は、サンプルに前処理を行うことにより、誤差を大幅に小さくできることを示している。

#### 4. ま と め

本研究では、日本酒のエタノール濃度を測定する膜、測定方法などについて、実験を行った。

まず、マイナス荷電膜、プラス荷電膜のエタノールに対する応答を調べた。その結果、TDAB膜は2C10膜に比べ、エタノールに対する傾き(mV/%)が3倍以上大きいことが分かった。

次に、日本酒は醸造過程においてpHが変化するので、それぞれの膜のpH応答を調べた。その結果、TDAB膜はpHが変化しても応答電位はほとんど変化しなかった。

上述の膜の特性を利用して、TDAB膜を使用し、日本酒のエタノール濃度を測定したところ、誤差が2%程度であった。

次に、エタノールに対して応答の大きいNPOE膜と、エタノールに対して応答の小さいn-DA膜の2本の電極を

用い、エタノール濃度の推定を行った。しかし、依然として誤差は2~3%程度であった。

そこで、サンプルの前処理を検討した。前処理としてイオン交換樹脂を用いたところ、誤差を大きく縮めることが出来た。

#### 5. 今後の展望

本研究により、日本酒のエタノール濃度推定の誤差を大幅に小さくすることが出来た。しかし、現在の測定系(バッチ式)では、イオン交換樹脂を用いるため、簡便性という点で問題がある。今後はこの問題を解決するため、測定系をフロー式に変えることにより、センサの簡便性を高めるだけでなく、サンプル溶液の更なる少量化、センサの小型化を進める予定である。また、エタノールセンサとして実用化するために、膜の耐久性、再現性も調査する必要がある。

おわりに、本研究を進めるに際し、有益な御助言を頂いた長野県食品工業試験場 蟻川幸彦主任研究員、福岡県工業技術センター 塚谷忠之技師に深く感謝いたします。

#### 参 考 文 献

- 1) 都甲 潔(編著): 感性バイオセンサ, 朝倉書店(2001).
- 2) 小俣 靖: "美味しさ"と味覚の化学, 日本工業新聞社(1986).
- 3) K.Toko: Biomimetic Sensor Technology, Cambridge University Press, chap.6(2000).
- 4) Y.Arikawa, K.Toko, H.Ikezaki, Y.Shinha, T.Ito, I.Oguri and S.Baba: Analysis of sake taste using multielectrode taste sensor, Sens.Materials, 7, 261-271(1995).
- 5) Y.Arikawa, K.Toko, H.Ikezaki, Y.Shinha, T.Ito, I.Oguri and S.Baba: Analysis of sake taste using multichannel taste sensor, J.Ferment.Bioeng., 82, 371-376(1996).
- 6) 塚谷 忠之, 都甲 潔: 脂質膜のエタノール応答, Trans.IEE of Japan, 118-E, 5, 266-271(1998).