

バイオミメティック液膜系の計測化学への応用研究

Study on application of biomimetic liquid-membrane system to instrumentation chemistry

代表研究者 東京大学工学部工業化学科講師 宮村 一 夫
Lecturer, Dept. of Industrial Chem., Faculty of Engng.,
The Univ. of Tokyo
Kazuo MIYAMURA

協同研究者 東京大学大学院工学系研究科工業化学専攻 吉久 寛
Graduate Student, Dept. of Industrial Chem., Faculty of Engng.,
The Univ. of Tokyo
Hiroshi YOSHINISA

A convenient experimental set-up consisting of a beaker and a hollow glass tube, capable of observing electric pulse generation in the liquid membrane system has been constructed. This set-up produces reproducible liquid-liquid interfaces, which collapse and generate electric pulses periodically. New mode of oscillation is found in the course of study, using this set-up, and the detailed investigation revealed the mechanism of the oscillation. Some primitive experiments are performed in order to apply this system as a chemical sensor.

研究目的

分析化学の今日までの発展は、分光分析法などの物理的な計測方法に支えられてきた。近年関心が高まっている味覚・嗅覚などの非線形情報も分析化学の重要な評価対象であるが、従来から用いられている検量線法に代表される線形的な現象を利用した物理的な計測手法では解析は困難である。このような質的に新しい化学情報を得るためには、化学的な手法で物質の情報を得る「計測化学」の観点に基づく新しい分析法、いわゆる化学センサーの利用が不可欠である。計測化学において「生体に学ぶ」という発想、すなわち生体现象を解明し、それを応用・利用するという考え方が広くなされつつあり、直接生体物質を用いたバイオセンサーの他に、生体機能を人工系で模倣したバイオミメティックな化学センサーを構築することが指向されている。この考え方によれば、人工の感覚器や神経を作るのみならず、さらに機能発現機構の解明をも期待できる。以上の観点に立

ち、生体の化学感覚を評価する化学センサーの構築を目的とした。

通常の神経がただ一種の伝達物質のみを感知するのに対し、味覚や嗅覚などの化学感覚では存在する多くの化学種を同時に識別するという特徴がある。水-ニトロベンゼン-水の三相液膜系に界面活性剤（水相）およびイオン対を形成する有機物（ニトロベンゼン相）を添加した系では、界面の振動現象が観察され、振動に同期して電位パルスを生じる。この系では共存する化学種によって電位パルスの発生頻度・波形・振幅などが変わり、味覚や嗅覚に類似した情報を与えることが知られている。

我々はこの液膜系を、プローブ部が非線形応答をするバイオミメティックな化学センサーとして利用することを考え、1. 振動の安定性の向上、2. 得られる情報の質の向上、3. 装置・操作の簡便性の向上を図り、そこで得られるデータを解析することにより新しい情報を与える計測システムの構

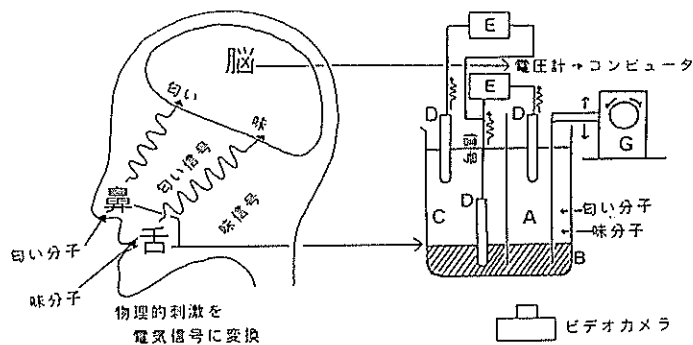


図1. 中空管を使った新しい実験系.

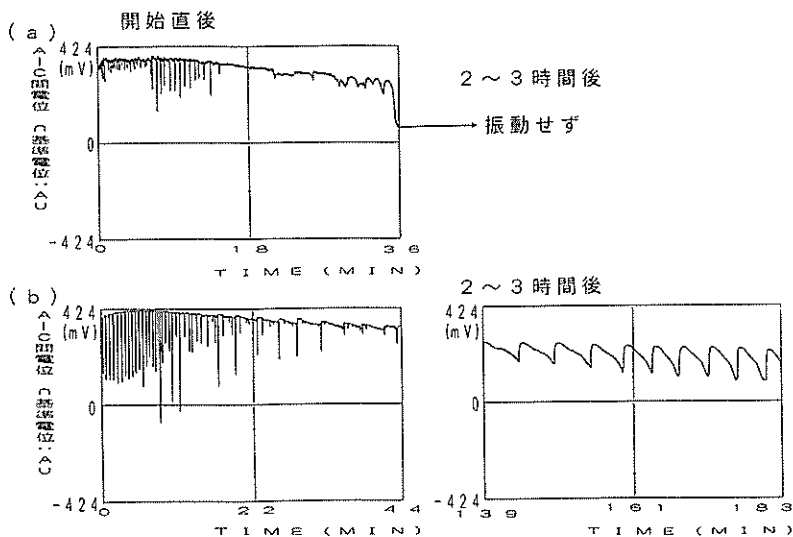


図2. 実験系(中空管)の材質による電位振動の変化。(a)硝子 (b)テフロン

築を試みた。またこの計測システムによる測定結果からこの液膜系における非線形振動現象の詳細な機構を考察した。

研究経過

液膜の自励発振現象は最初 Dupeyrat らにより発見され、吉川(名古屋大)らにより改良され安定した振動の起きる条件を見いだした。吉川らの系はU字管の底部に有機相、上部両肩に水相を入れた系であり、二つの水相の一方に加える化学種の違いにより異なる応答を示す。しかし、この系では振動の再現性・安定性が低いという欠点がある。これはU字管の構造から液-液界面の形状が溶液量の微小な変化により一定せず、また水相の導入がむずかしいことに起因している。

そこで硝子製ビーカーを中空管で間仕切りする装置系(図1)を考案した。この系では溶液の導入が容易である上、界面形状および界面間距離を一定にできるため、系の安定性が高まり、振動が確実に起きるようになった。今回、振動する界面を特定するために有機相にも電極を挿入し、界面により区切られる相間の電位差を、二つの界面で独立に測定できるようにした。また固-液界面の影響を調べる目的で装置の材質による変化を硝子とテフロンについて調べ、外側のビーカーの材質は振動の安定性にあまり影響を与えず、中空管の材質が振動に変化を及ぼすことを明らかにした。さらに電位振動と同時に界面のようすをビデオカメラで観察するようにし、複数の中空管を同時か

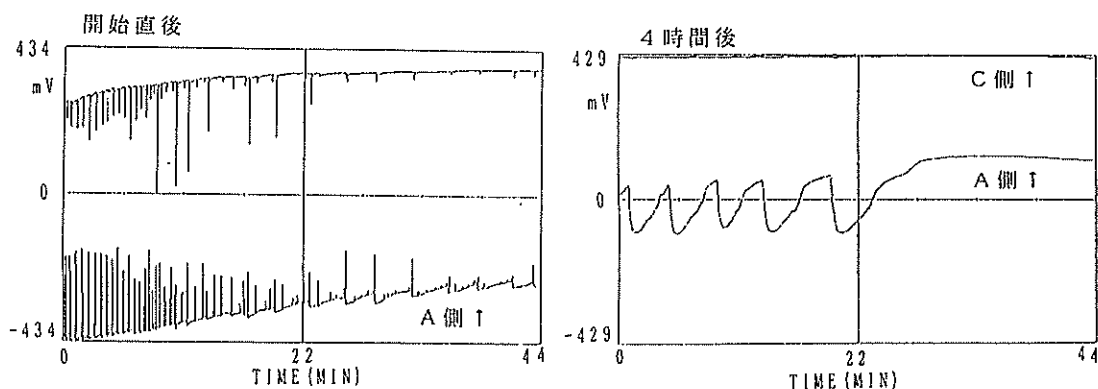


図3. 電位振動の経時変化……テフロン系の系.

つ独立に挿入できるようにした。具体的には、図1の底部Bにピクリン酸ニトロベンゼン溶液を入れ、上部は中空管で仕切り、管内Aに界面活性剤CTABと1-ブタノールの水溶液、管外Cに味覚物質としてD-グルコース水溶液を入れる。Zステージで中空管を持ち上げるにより、両界面を可能な限り近付けて測定する。

研究成果

1. 振動の安定化

この系の界面の振動は、電位測定以外に目視でも観察でき、A-B界面（界面活性剤を含む側の界面）の振動は界面の外壁と接する部分から起きて見える。したがって、界面の振動（界面の層の破壊）は液-液界面の中でも、液-液-外壁固体の三相の接触部分から起きていることが想像される。そこで、ここでは外壁固体（中空管）の材質を従来の硝子と、濡れにくいテフロンとで比較することにより、三相接触部分の振動に与える影響を調べた。図2に、(a)は硝子、(b)はテフロン系の系で観測された典型的な電位変化を示す。従来の硝子の系では振動は40分程度で終了するのに対し、テフロンを用いることにより振動は大幅に安定し、4時間あるいはそれ以上に亘って振動が持続した。このことから液-液界面の外側の縁、つまり液-液-外壁固体の三相界面が振動の開始に深く関与していることが分かった。

2. 振動の経時変化

図2の結果を見ると、振動の前半と後半では明らかにようすが異なる。後半の振動はテフロン

系では安定して数時間持続するが、硝子の系では起きにくく、起きて数回の不安定な振動だけで終わる。この系では2種類の振動機構が存在するものと考え、詳細に検討した。図3は、テフロン系の系で有機相にも電極を挿入し、二つの液-液界面の電位の経時変化を両方向同時に測定し、比較したものである。Bの有機相を基準電位として、A-B間およびB-C間電位を独立に計測した。最初の40~50分間、電位振動は鋭く大きなピークとして両界面ほぼ同時に観測される（前半の振動）。この時A側は常に正の電位パルスを与えるが、C側では条件によって変わる。振幅もA側はほぼ一定だが、C側は不安定で、初めは小さく、時間経過とともに大きな揺れが現れる傾向がある。C側の振幅とピーク幅とは反比例的に、ピーク前後の電位変化とは比例的に対応している。

当初は頻繁に振動が起こるが、徐々に振動間隔が長くなり、やがて鋭いピークは見られなくなり、以降C側の電位はほとんど変化しない。一方A側は数分電位が上昇した後急に元の電位近くまで下がるという鋸状の振動を繰り返す（後半の振動）。この間電位の上昇とともに、振幅が徐々に大きくなり、最後は上昇したまま一定電位に到達する。このA側で起こる後半の振動が硝子の系で起きにくいことから、後半の振動が特に中空管固体表面に影響されていることが分かる。

この系では条件によって、鋭いパルスを観測する場合とブロードな周期的振動を観測する場合が報告されていたが、ここではちょうどこの振動の

前半がパルスの、後半が周期的と異なる振動を起こしており、同一の系で両方の観測に成功した。振動のようすが変わるといことはそこで起きている機構が違うということの意味しており、この系の振動機構を考える上で極めて重要な知見である。また、この系の振動は吉川らによれば A 側で起こるとされていた。一方、東京薬科大の楠らは測定の結果、C 側が振動すると報告している。我々の結果は、前半は両側で、後半は A 側だけで振動が起きるというものであるが、固体界面の性質により振動が変化することから、このような報告の食い違いは測定装置によって振動する界面の状況が変化するため生じたものと解釈できる。我々の測定では C 側のみで振動が起きることはなく、電位振動の主体はあくまで界面活性剤を含む側であることが結論された。

なお、観測頻度は低いが、後半の振動がいったん終了してから再び A 側の電位が降下して振動が再開する場合がある。この場合も振動は A 側だけで起きるが、それ以前の振動とは振動様式が異なる。この振動について現在、安定に観測される条件を検討している。

3. 共存する化学種の影響

A 相のアルコールの炭素数を大きくし疎水性を上げると、吉川らの報告と同様、振動数が増し振動が安定化し、また、アルコール濃度を上げると振動数が増した。これは界面の破壊がアルコールにより引き起こされ、アルコールの濃度や疎水性が増すと有機相への拡散速度が増して破壊の頻度が大きくなるためと考えている。さらに、A 相の界面活性剤 CTAB の濃度と B 相のピクリン酸の濃度の比により発生電位が大きく変動する。この結果は両者が A-B 界面近傍でイオン対（厳密にはその集合体）を形成することを示しており、その形成-破壊による電位変化が電位振動の原因と考えられる。したがって、共存する化学種の影響は界面への影響の他、イオン対形成能への影響も考えられる。

4. ビデオカメラによる観察

前述のように、この振動は目視でも観察できる。電位振動と界面の挙動（破壊）の相関を見る

ために、ビデオカメラによる振動界面の観察を電位測定と同時にを行った。以下はすべてテフロン系の測定である。観察により、界面の破壊は電位振動の場合と同様、前半は両方の界面で、後半は A-B 界面だけで起こることが分かった。前半の振動の段階では A-B 界面部分は透明で、黄色の油状微小球が生成し、その界面近傍での運動を通して界面の破壊を観察できる。この動きと同期して A 側の電位は急激に上昇し、パルスの発生を見る。一方 B-C 界面では A 側の変化に前後して中空管との界面付近から界面全体に白色の霧状生成物が広がる。後半の振動では、A-B 界面には不透明な黄白色の相が界面を覆い、常に細かく動いている。その相の中空管と接する一ヶ所が破裂し、その破裂が界面の半分程度まで広がる。この瞬間電位が急激に降下する。この間、B-C 界面側は全く変化しない。

電位の急激な変化と界面の破壊は必ず同時に起きており、界面の破壊-形成の繰り返しにより電位振動が引き起こされることが確認された。

今後の課題と発展

1. 振動機構の考察

以上の結果から A-B 界面の振動機構を以下のようなものと結論した。

(1) [前半] CTA カチオンとピクリン酸が界面付近に引きつけあって集まり、イオンの集合体を形成する。この集合体は水素イオンの移動を抑制するため、A 相に残る過剰の臭化物イオンにより、電位が発生する。このイオンの集合体はある濃度を超えると界面から有機相に移り、その時、界面が破壊され、有機相側のピクリン酸の解離により生成する水素イオンの A 相への移動が可能になる（電位パルスの発生）。再び界面にイオン集合体が形成されると、水素イオンの移動は抑制され止まり、元の電位に戻る。

(2) [後半] 水素イオンは常に A 相側に移動できる（A 側電位の連続した上昇）。界面が破壊されると、過剰に移動した水素イオンの分、CTA カチオンが有機相側に移動し、電位は急激に下がり元に戻る。

現在、この機構を実証し、さらに詳細な機構を

明らかにする目的で各相の物質質量の変化を直接解析することを検討している。

2. 装置のマイクロ化

中空管の管径を小さくし、界面面積が小さくなれば、外壁の三相界面の影響がより大きく現れ、振動は起こりやすくなり、振動数も大きくなるはずである。そこで実際に中空管の管径を変えて測定した。しかし、テフロン管の加工はむずかしく、適当な微小管径の中空管を作ることができなかったため、ここでは硝子の中空管を用いた。同じ実験系で中空管の管径だけを 12 mm, 5 mm, 1 mm で変えて測定を行ったところ、12 mm と 5 mm では顕著な変化が表れず、また管径 1 mm では電位振動が起きなかった。これは硝子の界面張力の影響で、管内の水位が毛細管現象で上昇し、管の内外で水位が一致せずインピーダンスが大きくなり過ぎたためと考えられる。テフロンの中空管を用いればこれらの影響は排除されると思われる。テフロン管の微小加工を現在試みている。また、界面の大きさをもっと極端に小さくするため、テフロンフィルムに小さな穴をあけた新しい測定系を試みたい。

3. 化学センサーとしての応用

今後、以上に挙げた課題を進めていき、複数の物質に対する応答のデータを解析することで、実際の化学センサーとしての応用が可能となるであ

ろう。したがって異なる界面活性剤を含有させた複数の中空管を挿入したマルチ化が重要な課題である。また、得られる複数のデータを解析する数学的な評価法の確立を通して、最終的には味・匂い・化学的性質を区別する新しい化学計測系の構築が可能になるだろう。

発表論文リスト

論文

- 1) K. Miyamura, H. Morooka, K. Hirai and Y. Gohshi: A Convenient Apparatus for the Study of the Electric Pulse Generation in the Liquid Membrane System. *Critical Behaviour of the Voltage Generation. Chem. Lett.*, 1833-1836 (1990).
- 2) 吉久 寛・宮村一夫・合志陽一: 「生体に学ぶ計測化学」*化学*, 48, 68-69 (1993).
- 3) H. Yoshihisa, K. Miyamura and Y. Gohshi: Studies on the Biomimetic Oscillation in the Liquid Membrane System. (予定 現在執筆中)

学会発表

- 1) 宮村一夫・合志陽一: 「円筒型セルによる 3 相液膜振動系の解析」日本分析化学会第 53 回分析化学討論会, 1H14 (1992. 5).
- 2) 吉久 寛・宮村一夫・合志陽一: 「筒状液膜振動系の解析」日本化学会第 65 春期年会, 2A2 36 (1993. 3).
- 3) 吉久 寛・宮村一夫・合志陽一: 「バイオミメティック液膜振動系による化学計測」日本分析化学会第 42 年会, 1P44 (1993. 10).