

アミロース塗布膜の分子構造に由来した

分子吸着挙動の検討

水野 陽介（化学技術部 材料化学グループ）

1. はじめに

これまでにナノグラムオーダーで質量変化を検出可能な水晶振動子マイクロバランス(QCM)法を用いた、フロー系の分子検出システムの検討を行っている¹。具体的には、特異的な分子の吸着を示す、多糖類のアミロースを QCM センサーに塗布し、アミロース膜による水中の有機分子の吸着を評価した。この時、アミロースを塗布したセンサーと未修飾のセンサーを有する QCM ツインセンサーを用いている。QCM ツインセンサーは、2 つのセンサーの測定値の差分をとることで温度変化や溶液の粘性の変化の影響を打ち消すことができるため、定量性や取り扱いの観点で単一のセンサーに比べて優れている。しかし、アミロースによる有機分子の吸着のほか、参照する未修飾センサー表面への物理吸着も同時に確認されており、検出した質量変化の要因は、アミロースの選択的な分子吸着に限定されない。そのため、非選択的な分子検出や測定値と濃度の相関の複雑化が予想され、改善すべき課題となっている。

そこで本研究は、センサー表面の性状の違いによる物理吸着の差異の影響を除き、アミロースの分子構造に由来した選択的な吸着による分子検出方法の確立を目的とした。アミロース分子は複数の二次構造を形成する。その中でもシングルらせん構造を有した V-アミロースは、らせん構造内部にゲスト分子を包接することが知られている^{2,3}。一方で、二重らせん構造を有した B-アミロースや老化アミロースは分子包接が不可能である。つまり、V-アミロースと老化アミロースをそれぞれのセンサーに塗布した QCM ツインセンサーを用いることで、分子包接に由来する分子吸着による質量変化のみの検出が期待できる。本研究では、上記センサーを作製し、V-アミロースが包接可能なカプリル酸の分子吸着挙動を QCM 法により検討した。

2. 実験

2.1 試料

アミロースは市販のでんぷん(北海道産ジャガイモ使用)から既報¹の方法で合成した。超純水には Milli-Q 水(Merck)を用いた。その他の試薬は購入したものをそのまま用いた。

2.2 アミロース塗布 QCM センサーの作成

20 mg のアミロースを DMSO 2 mL に加え溶解した。その溶液を 50 mL に定容し、さらに 12 倍に希釈した。希釈液 30 mL を QCM ツインセンサーの 2 つの電極表面にそれぞれ滴下し、一方のセンサーにのみ 10 mL のブタノー

ルを添加した。自然乾燥した後にメタノールで数回洗浄し、真空乾燥することで両方のセンサーにアミロースを塗布した QCM ツインセンサー(Twin-AM)を作製した。この時、ブタノールを添加した膜では V-アミロースが形成し、無添加の膜では老化アミロースが形成する。片方のセンサーにのみ V-アミロースを塗布した QCM ツインセンサー(Single-AM)の作製は、同様の方法でアミロースの重量のみを 100 mg に増やして行った。

2.3 QCM 法

測定には NAPiCOS システム(日本電波工業)および 30 MHz ツインセンサーを用いた。測定セルにはフローセルを用いた。測定温度は恒温チャンバーを用いて 25 °C とした。キャリアーは超純水を真空脱気して用いた。流量は 10 mL/min とした。注入するカプリル酸水溶液は濃度の低いものから順に 100 mL ずつ注入した。

3. 結果と考察

3.1 Single-AM のカプリル酸水溶液に対する応答

飽和カプリル酸水溶液およびその希釈液(飽和濃度 C_{max} , $1/2C_{max}$, $1/4C_{max}$, $1/8C_{max}$, $1/16C_{max}$)を濃度の低い順に注入し、Single-AM で QCM 測定を行った。その時のアミロース塗布センサー(CH1)と未修飾センサー(CH2)の周波数の経時変化 ΔF を図 1(a)に示す。カプリル酸水溶液の注入に

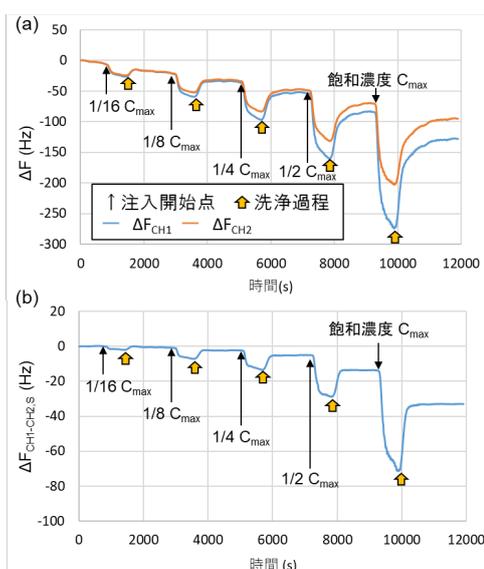


図 1 Single-AM を用いた QCM 測定における、カプリル酸水溶液注入時の周波数経時変化: (a) 各電極の周波数変化 ΔF (CH1: V-アミロース、CH2: 未修飾) (b) 周波数差分の変化 $\Delta F_{CH1-CH2}$.

より、アミロースの塗布の有無に関わらず、質量増加を意味する周波数の減少が起き、水での洗浄により質量減少を意味する周波数の増加が起こった。この時、注入前の周波数までは戻らず、不可逆的な分子吸着が示唆された。

CH1 と CH2 の周波数の差分の変化($\Delta F_{\text{CH1-CH2,S}}$)を図 1 (b)に示す。カプリル酸水溶液の注入時、注入後ともに $\Delta F_{\text{CH1-CH2,S}}$ の明確な減少が見られ、可逆的、不可逆的な分子吸着量とともに CH1 センサー表面で大きいことが示された。

これらの結果から、アミロース塗布センサーは未修飾センサーよりもカプリル酸の吸着量が明らかに大きいことがわかる。しかし、未修飾センサーにおいても物理吸着が起きているため、 $\Delta F_{\text{CH1-CH2,S}}$ には両センサーの物理吸着の差異の影響も含まれている。

3.2 Twin-AM のカプリル酸水溶液に対する応答

濃度の異なるカプリル酸水溶液(10, 50, 100, 200, 400 ppm)を注入した際の、Twin-AM(CH1:V-アミロース塗布、CH2:老化アミロース塗布)の $\Delta F_{\text{CH1-CH2,T}}$ の経時変化を図 2 に示す。カプリル酸水溶液を注入後、 $\Delta F_{\text{CH1-CH2,T}}$ はわずかに減少し、洗浄過程で更なる減少が起こった。この周波数変化の傾向は、Single-AM での測定と異なるものであった。これは、カプリル酸水溶液と接触している間は、両センサーでほぼ同量の吸着が起こるが、洗浄過程後に残存するカプリル酸分子が V-アミロースに多いことを示している。つまり、 $\Delta F_{\text{CH1-CH2,T}}$ の減少が示すセンサー表面の質量増加は、V-アミロースの分子構造によって、特異的に吸着されたカプリル酸によるものだと考えられる。

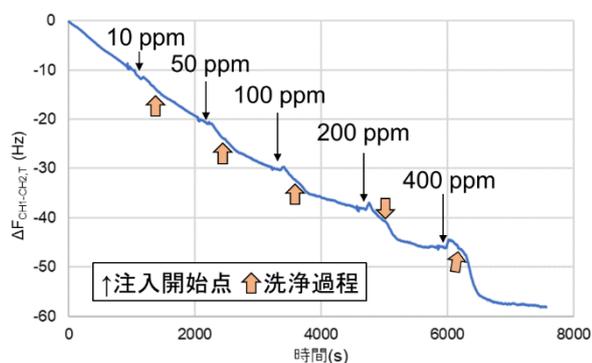


図 2 Twin-AM での QCM 測定におけるカプリル酸水溶液注入時の周波数差分の変化 $\Delta F_{\text{CH1-CH2,T}}$ (CH1:V-アミロース、CH2:老化アミロース)。

カプリル酸水溶液を注入する前から、洗浄後までに減少した $\Delta F_{\text{CH1-CH2,T}}$ の値を濃度ごとに算出し、それぞれの濃度に達するまでの減少値を積算した値を $F_{\text{Twin-AM}}$ とした。その際、ベースラインが傾斜していたため、ベースラインの影響を補正している。 $F_{\text{Twin-AM}}$ の注入したカプリル酸水溶液に対する濃度依存性を図 3 に示す。10-400 ppm のカプリル酸水溶液では、溶液濃度の増加に伴い、 $F_{\text{Twin-AM}}$ が減少した。その相関には直線性があったことから、分子検出手法としての有効性が示唆された。しかし、今回の測定は Single-AM および Twin-AM で測定条件が異なっており、

また、ベースラインがドリフトしているため、より信頼性の高い評価が必要である。

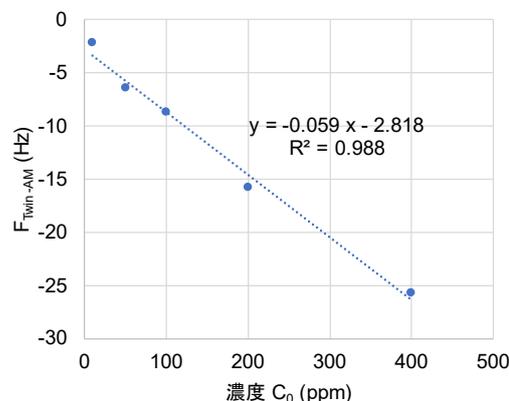


図 3 $F_{\text{Twin-AM}}$ の注入したカプリル酸水溶液に対する濃度依存性。

4. まとめ

分子構造の異なるアミロースを塗布した QCM ツインセンサーを用いることで、センサー間の物理吸着の違いによる影響を最小限にし、アミロースの分子構造に由来した不可逆的な分子吸着による周波数減少の評価が可能であることを示した。また、周波数減少量と注入したカプリル酸水溶液濃度の相関には直線性があり、アミロース分子が特異的に吸着可能な有機化合物を対象とした水溶液の濃度測定手法として有効性が示唆された。ただし、10 ppm の濃度で数 Hz という小さな変化になるため、より低濃度の分子検出を行うには高感度化が課題である。

本研究の改善により、通常、バッチ式の測定が行われている水道水の水質管理において、ppm、ppb オーダーの濃度の有機化合物の検出が連続的に行えるようになり、リアルタイムの水質モニタリングの実現が期待できる。

【参考文献】

1. 水野 陽介, *KISTEC 研究報告*, 54-56(2021).
2. T. Kuge, K. Takeo, *Agr. Biol. Chem.*, 32, 1232-1238 (1968).
3. C. A. K. Le, *Doctoral Thesis*, University of Grenoble Alpes, Grenoble (2018).