

参考文献

- 1 Sano, yoh. Food Hydrocolloids, New york, 1992.
- 2 Karamanos, Nikosiki. Anal. Biochem, 1994, 221(1): 189 ~ 99.
- 4 PCT. Int. Appl. Wo9309, 766.
- 5 Alves, M. L. M. et al. Braz. J. Med, Biol. Res. 1994, 27 (9): 2103 ~ 2108.
- 6 Geomes, E. M. Mutat. res., 1996, 1367(4): 203 ~ 208.
- 7 日本公开特许公报, JP07, 255, 416.
- 8 Eur. Pat. appl. Ep682, 873.
- 9 日本公开特许公报, JP07, 303, 169.
- 10 日本公开特许报, JP07, 327, 632.
- 11 肖凯军等. 大豆蛋白中 7S 和 11S 的功能特性研究. 中国食品工业. 1996, 3.
- 12 刘振海, [日] 富山立子, 主编. 分析化学手册(第六分册, 热分析). 化学工业出版社, 1995, 5.
- 13 Matheus, Martin B, et al. Biochem. Biophys. Acta. 1977, 497(1): 151 ~ 159.
- 14 PCT Int, Appl, 8002, 501.
- 15 戴有盛. 食品的生化 and 营养. 科学出版社, 1994.
- 16 Got, Reve, Comp. Biochem, Physiol., 1968, 26(3): 947 ~ 954.
- 17 J. Doyle, Comp. Biochem. Physiol., 1967, 25(1): 201 ~ 206.
- 18 Alencar, J, W, et al. Rev. Bras. Farm, 1995, 76(1): 7 ~ 8.
- 19 Hanoalkar, et al. Thermal Analysis of Foods, Elsevier Applied Science, London and new york, 1992.
- 20 天津轻工学院编, 食品生物化学. 轻工业出版社. 1989.
- 21 [台湾] 续光清. 食品化学. 徐氏基金会出版社, 1982, 6.
- 22 [日] 五十岚修著, 刘继生, 奚印慈译. 食品化学, 科学出版社, 1994.
- 23 Dpdrogiez Dora. Rev. Cubara Farm, . 1987, 21(2): 123 ~ 401.
- 24 Kubota, minora, et al. J. Tokyo Univ. Fish, 1967, 54 (10): 11 ~ 20.
- 25 US, OS4, 473, 551.

固体支撑双层脂质膜(S—BLM)味觉传感器的初步研究

邓少平 郝俊光 张传瑞 胡国华 周抒

南昌大学食品科学与工程系 330047

摘 要 介绍一种固体支撑双层脂质膜(S—BLM)味觉传感器的制作方法。通过对膜的形成过程和寿命的观察, 验证了 S—BLM 具备制作简单, 成形快, 稳定好, 寿命长等优点。S—BML 味觉传感器对不同浓度的蔗糖、柠檬酸进行测定, 发现在一定范围内, 味物质浓度与膜电容之间较好地符合 G. H. Techner 感觉对数定律。

关键词 S—BLM 味觉传感器 膜电容

Abstract A metho of forming S—BLM (solid supported self—assemblig bilayer Lipid membrane) is described. By obcerving the fomation of BLM and life of BLM, S—BLM is found possessing some advantages, such as easy to make, good stability and long life span. By using it as taste sensor to measure different concentrations of sugar and citric acid, if is concluded that in some range, the relation between the concentration and the membrane capacity follows the G. H. Techner's feeling logarithm law.

Key Word S—BLM Taste sensor Membrane capacity

近年来,双层类脂膜作为生物传感器和分子传感器件,越来越引起人们的关注^[1]。但通常采用的生物膜模型平板 BLM 是在分隔两水相疏水隔板的小孔上形成的,很不稳定,一般仅能维持 2~4h,不能满足长时间科研与实际应用的需要^[2]。为了提高膜的稳定性,人们做了大量尝试。例如:在滤纸微孔上形成 BLM^[3],通过类脂聚合形成 BLM^[4]以及通过微加工形成微孔 BLM^[5]等,均取得了较理想的效果。尤其, H. T. Tien 于 1989 年发现在新生金属表面上自组装形成的双层脂质膜的机械稳定性高,寿命可长达 36h^[6]。

另外,味觉传感器的研制是近几年新兴的课题,所用到的可兴奋性人工膜主要是液膜和双层脂质膜两种^[7,8]。由于双层脂膜的成膜材料多,制作简单,性能稳定,获取信号多等优点,日益受到人们重视。针对国内外尚无把 S—BLM 应用于味觉传感测定中的现状,我们首次利用 S—BLM 进行了味觉测定的探讨,得出了满意的结论。

1 实验部分

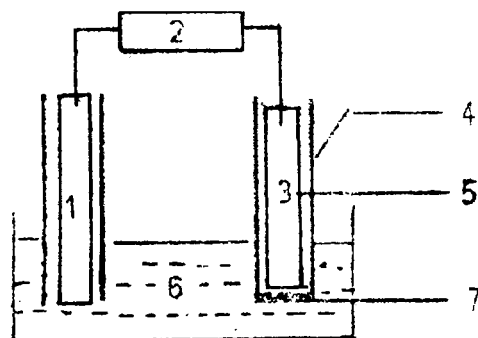
1.1 仪器与试剂

DT9104 数字显示仪,自制电极;氯化钾、蔗糖、柠檬酸、大豆卵磷脂、正辛烷(均为分析纯),水为二次蒸馏水,以及不锈钢丝等。

1.2 膜的制备与寿命观察

把长 10cm 直径 0.1mm 的不锈钢丝均匀地缠上 10 层聚氯乙烯薄膜后,将一端插入临时配制好的饱和卵磷脂正辛烷中。用锋利的刀片迅速将不锈钢丝顶部切断,使其露出新截面,并在脂液中持续浸泡 10min,然后将不锈钢丝提出,放入 0.1mol/L KCl 溶液中,使其自动生成稳定的类脂双层。接通测量电路,进行膜生成情况和稳定寿命的观察。

测量电路如图 1 示,整个电路由指示电极,参比电极,DT9104 数字显示仪和 0.1mol/L KCl 溶液构成,其中,指示电极为具有 S—BLM 的不锈钢丝,参比电极为不含 S—BLM 的不



1. 参比电极 2. DT9104 数字显示仪
3. 指示电极 4. 聚四氟乙烯薄膜
5. 金属丝 6. 0.1mol/L KCl 溶液 7. S—BLM

图 1 测量 S—BLM 电容值的电路示意图

锈钢丝。

1.3 蔗糖、柠檬酸对膜电容的影响

按 2.2 的制膜和测定方法,把 0.1mol/L KCl 更换为不同浓度的蔗糖、柠檬酸进行测定,便可得出二者的对应关系。在测量期间,为了减少上次测定对下次测定的影响,保持膜功能的一致性,我们采用了相应的保护措施。每测完一个样品,先用少量 2 次蒸馏水冲洗膜,再把 S—BLM 放入 0.1mol/L KCl 溶液中浸泡,使恢复 5min 后再使用。

另外,为了减少外界电磁场的影响,提高膜的灵敏性,整个实验是在屏蔽室及室温 25℃ 条件下进行的。

2 结果与讨论

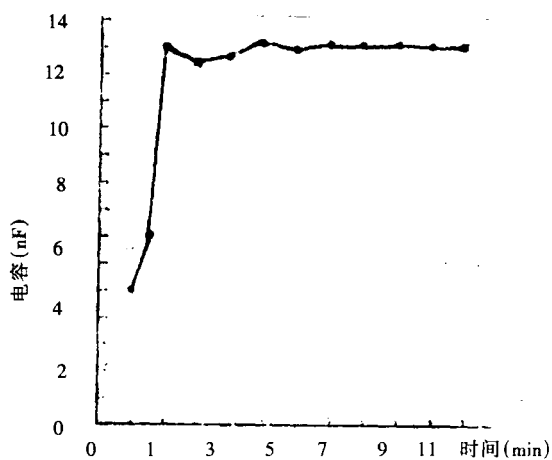


图 2 膜的生成过程

2.1 膜的形成过程与寿命的观察与机理讨论^[6]

如图 2 示,饱和卵磷脂 S—BLM 的电容值,在插入 0.1mol/L KCL 溶液后,4min 内便达到稳定的电容值,标志着双层脂膜的正式形成。由此引可见,S—BLM 容易形成,而且形成速度快。

如图 3 示,饱和卵磷脂 S—BLM 的电容值

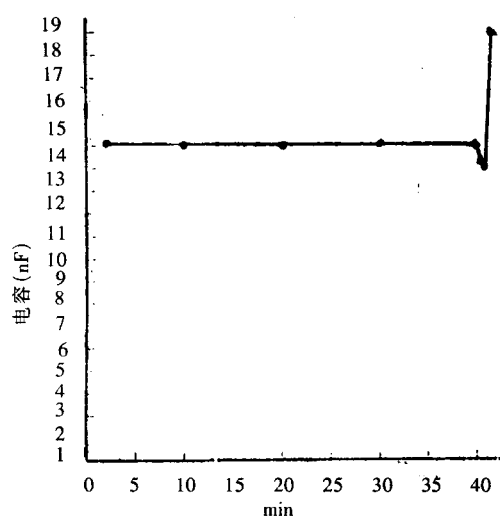


图 3 膜的寿命

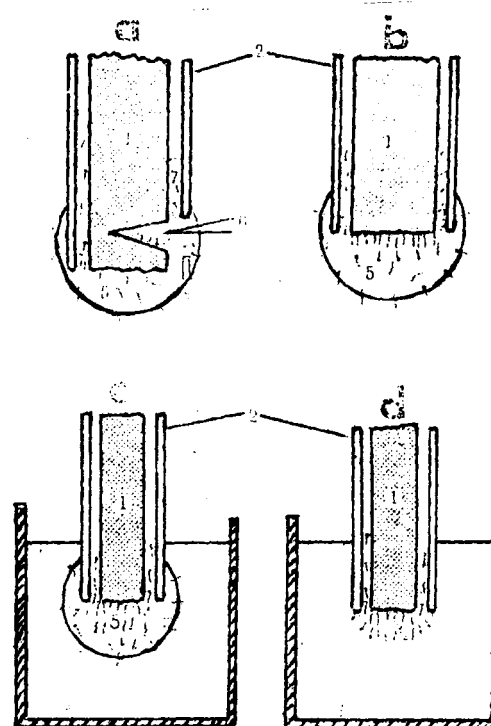
持续 40h 保持不变,表示 S—BLM 可长时间的稳定存在。与平板 BLM 的寿命相比,S—BLM 有了质的提高。

S—BLM 的形成机理,主要是基于新生金属表面和具有双亲性的类脂分子间的相互作用。按图 4a 示,用锋利的刀片把包有亲脂的聚四氟乙烯薄膜的金属丝在脂溶液中切开。依据金属—聚合物界面理论,金属表面与类脂分子间便发生化学键合作用。图 4b 示,新生的金属表面有强的吸水性,定向吸附类脂分子,使形成单分子类脂层。其中类脂分子极性端与金属表面接触,疏水端则指向有机溶剂,当金属丝被提出溶液时,含有自由碳氢链的吸附脂单层与其它类脂分子发生作用,使金属丝底端吸附一滴脂滴。

图 4c 示,把吸附类脂滴的金属丝插入 0.1mol/L KCL 溶液后,脂滴便在亲水、亲脂的共同作用下,逐渐变薄。液滴分子的排列也由

无序变有序,最终形成如图 4d 示的稳定双层结构。S—BLM 形成后,电容值一直保持相对稳定,直至最终破裂。

尽管类脂分子的形成过程中力的具体作



a、b、c、d 分别表示 S—BLM 形成的过程

其中:1. 金属丝 2. 聚四氟乙烯薄膜层

3. S—BLM 4. 0.1mol/L KCL 溶液

5. 类脂溶液 6. 刀片 7. P—6 边缘带

图 4 S—BLM 的形成过程图

用及 S—BLM 形成后分子的确切排列和有序度尚不完全清楚。但在金属—类脂—水溶液界面上形成的双层脂膜的自动组装过程,很可能是自由能变化的热动力学的必然结果。

2.2 膜的电容与味物质浓度的关系

实验发现,S—BLM 的电容值重复性较好,电阻值重复性较差,因而实验中采用电容值作为 S—BLM 的电特性指标。从物理学上看,S—BLM 可以等效为平板状电容,膜的接触物——电解液、金属丝为导电板,膜的碳氢链则是双电层。因而,膜电容值主要是受外加电压,膜电荷

密度及电解质浓度的影响。

本实验中,更换不同浓度的味物质溶液,按方法 2.2 进行测定,得到如图 5 的结果。不难发现,蔗糖、柠檬的浓度与 S—BLM 电容值间存在良好的线性关系,较好地符合了 G. H. Techner 感觉对数定律: $R = a \lg s + b$ 。(式中 R 为反应强度,此处为电容值; S 为味物质浓度, a 、 b 则分别为系数常量)。由于味物质浓度, a 、 b 与电容值间存在着线性关系,使 S—BLM 对未知浓度的味物质进行定量测定成为可能。这一结果,与 Beidler 报道的生物体内味觉感受神经产生响应的大小与外界刺激物质的物质量之间的关系相一致^[9],从而进一步证实了固体支撑的双层脂膜在味觉仿生测定中有着巨大的应用潜力。

2.3 S—BLM 优缺点的讨论

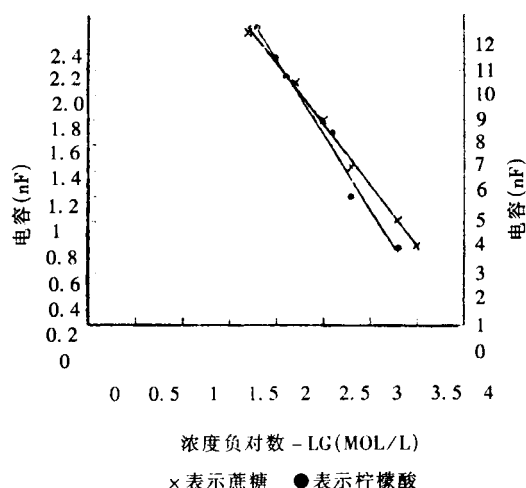


图 5 柠檬酸、蔗糖浓度与膜电容关系

通过实验,我们验证了 S—BLM 具有制作简单,形成迅速,制备成功率高,机械稳定性好,耐机械振动,寿命提高几十倍等优点。另据文献报道,S—BLM 在折光率、电光特性,光电学特性等方面,与平板双层脂膜十分相近^[6]。不难预测,今后 S—BLM 将在某些领域中取代平

板 BLM 的应用。另外,S—BLM 的相态为液晶态,易嵌入生物活性分子,从而实现对生物膜相关功能的模拟。可以设想,如果在 S—BLM 中嵌入味觉受体,则将更接近味觉发生的实际情况。

当然,S—BLM 也存在着缺点,主要是 S—BLM 一端与金属表面接触,堵塞了离子通路。但是,这一缺点可以被金属支撑体提供的电势所弥补。

总之,固体支撑的 BLM 性能稳定、价格便宜,形体细小、易于组合,在生物传感和分子传感器件方面有很大的应用潜力。通过实验,可以看出 S—BLM 作为一种新型的可兴奋人工膜,在今后的味觉传感尤其是多路味觉传感中将起到关键的作用,为味觉传感器的稳定性提高以及实用化奠定了可靠的基础。

参考文献

- 1 H. T. Tien 著. 谢明贵译. 以双层脂膜为基础的生物传感器和器件及其应用与展望. 生物化学与生物物理进展. 1992, (2): 100 ~ 104.
- 2 杨昌正. 二茂铁及其衍生物修饰的铂支撑的双层脂膜. 生物化学与生物物理进展. 1992, 19, (5): 391 ~ 394.
- 3 H. ti. tien. polymer - modified bilayer lipid membranes the polypyrrole - lecithin system. Bioelectrochemistry and Bioenergetics. 1988, 19, 405 ~ 412.
- 4 Mete Eray. Highly stable bilayer lipid membranes (BLMS) formed on microfabricated polyimide apertures. Biosensors and Bioelectronics. 1994, 9, 343 ~ 351.
- 5 H. Yi. tien. Formation of self-assembled lipid bilayer on solid substrates. Bioelectrochemistry and Bioenergetics. 1989, 22, 211 ~ 218.
- 6 Kenichi Yoshikawa. A possibility approach to recognize chirality by an excitable artificial liquid membrane. Biophysical Chemistry. 1986, 24, 111 ~ 119.
- 7 Miwada. Taste sensing system using artificial lipid membrane. EP. 0410 356 A1.
- 8 Bidler L. M. J. Gen. physiol, 1954, 38, 133 ~ 136.