

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2017年7月13日(13.07.2017)



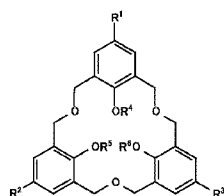
(10) 国際公開番号
WO 2017/119252 A1

- (51) 国際特許分類:
G01N 27/333 (2006.01) *G01N 27/414* (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2016/087266
- (22) 国際出願日: 2016年12月14日(14.12.2016)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2016-002344 2016年1月8日(08.01.2016) JP
- (71) 出願人: 東洋製罐グループホールディングス株式会社(TOYO SEIKAN GROUP HOLDINGS, LTD.) [JP/JP]; 〒1418627 東京都品川区東五反田2丁目1番1号 Tokyo (JP). 学校法人東洋食品工業短期大学(TOYO COLLEGE OF FOOD TECHNOLOGY) [JP/JP]; 〒6660026 兵庫県川西市南花屋敷4丁目2番2号 Hyogo (JP).
- (72) 発明者: 八木 謙一(Yagi, kenichi); 〒6660026 兵庫県川西市南花屋敷4丁目2番2号 学校法人東洋食品工業短期大学内 Hyogo (JP).
- (74) 代理人: 小野 尚純, 外(ONO, Hisazumi et al.); 〒1050003 東京都港区西新橋三丁目5番2号 西新橋第一法規ビル Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユー

[続葉有]

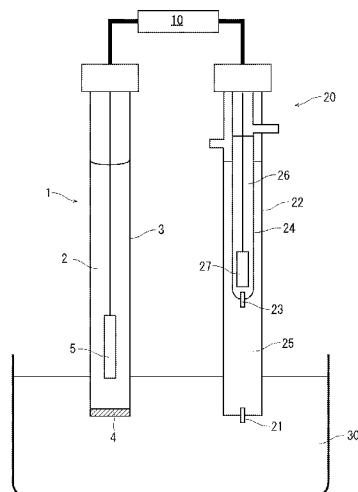
(54) Title: ION-SENSITIVE MEMBRANE, ION-SELECTIVE ELECTRODE, AND ION SENSOR

(54) 発明の名称: イオン感応膜、イオン選択性電極、及びイオンセンサ



(1)

[図2]



(57) Abstract: Provided are: an ion-sensitive membrane which is characterized by containing a homooxacalix[3]arene derivative represented by formula (1) [wherein R^1 , R^2 and R^3 independently represent a hydrogen atom or an alkyl group having 1 to 4 carbon atoms; and R^4 , R^5 and R^6 independently represent any one of a hydrogen atom, an alkyl group having 1 to 18 carbon atoms and an ester group having 1 to 18 carbon atoms] as an ionophore for the ion-sensitive membrane, cannot be interfered by inorganic ions, and can be used in an ion-selective electrode having a potential-responsive behavior against tyramine and/or histamine; and an ion-selective electrode.

(57) 要約: イオン感応膜のイオノフォアとして、下記式(1)式中、 R^1 , R^2 , R^3 は、水素原子、炭素数1~4のアルキル基であり、 R^4 , R^5 , R^6 は、水素原子、炭素数1~18のアルキル基又は炭素数1~18のエステル基の何れかである、で表されるホモオキサリックス[3]アレン誘導体を含むことを特徴とし、無機イオンによる妨害がなく、チラミン及び/又はヒスタミンに対して電位応答挙動を示すイオン選択性電極に使用可能な感応膜及びイオン選択性電極を提供できる。



ロシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨー
ロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,
ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV,
MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,
SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

明 細 書

発明の名称：

イオン感応膜、イオン選択性電極、及びイオンセンサ

技術分野

[0001] 本発明は、不揮発性生体アミン類、特にチラミン及び／又はヒスタミンと理想的な電位応答挙動を形成可能なイオン感応膜、このイオン感応膜から成るイオン選択性電極及びイオンセンサに関する。

背景技術

[0002] 近年、食品の安全性に対する消費者の意識が高まっており、食品の安全性を数値化（可視化）することによって、食品の鮮度評価による可食期間の延長、ひいては廃棄物を減量することが求められている。

従来より、食品の鮮度評価は、パネラーによる臭いや味覚変化を評価する官能評価法によって行われることが一般的であるが、この官能評価法では、パネラーの熟練度、体調或いは嗜好などに影響を受ける。また食品劣化の評価は、パネラーによる官能評価法では危険であることから実施することは困難である。

[0003] このような観点から、食品の鮮度を表すK値算出法等、生体アミン等の成分分析を行うことによって食品の鮮度評価が行われている。例えば、魚肉は、腐敗により不揮発性生体アミン類（チラミン、ヒスタミン等）が増加することから、これらを定量分析することによって評価できる。

このような生体アミン類の成分分析には、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）法（特許文献1）や、酵素反応を利用した酵素電極法（特許文献2）、或いは生体アミンと反応する特定の酵素を用いる方法等が行われている。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：特開平8－217921号公報

特許文献2：特公平7－50069号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] HPLC法による分析は、正確な分析が可能であるが、装置自体が高価であり、測定時間も長く手軽に分析することは困難である。また酵素電極法による分析は、HPLC法に比べ測定時間は短いが、酵素が反応するという性質上、多数回連続測定が難しく、高コストであるという問題がある。

一方、成分分析の方法としてイオン選択性電極法も知られており、無機イオンの定量分析に使用されているが、有機イオンを測定対象にしたイオン選択性電極はほとんど市場には出しておらず、上述したような生体アミン類の分析に使用すると、無機イオンによる妨害が発生し、正確な定量分析を行うことができなかった。

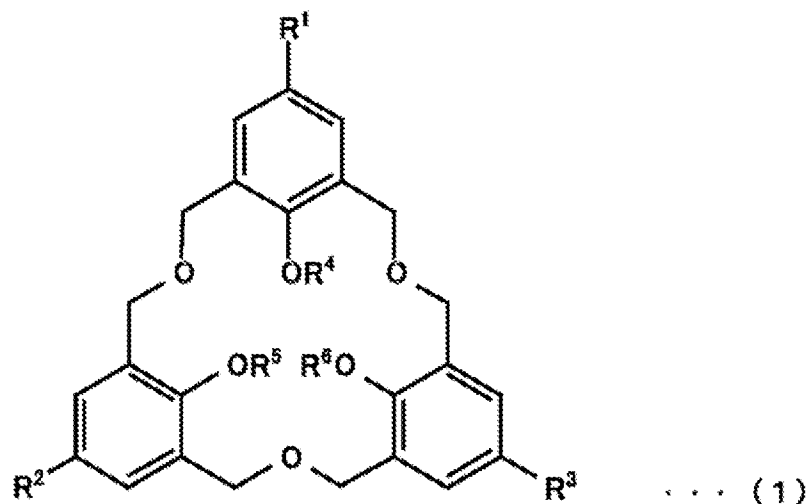
[0006] 従って本発明の目的は、無機イオンによる妨害がなく、不揮発性生体アミン類、特にチラミン及び／又はヒスタミンに対し理想的な電位応答挙動を示すイオン選択性電極に使用可能なイオン感応膜及びイオン選択性電極を提供することである。

本発明の他の目的は、食品の鮮度評価に使用可能なイオンセンサ及びこのイオンセンサを用いた食品鮮度管理方法を提供することである。

課題を解決するための手段

[0007] 本発明によれば、イオノフォアとして、下記式（1）

[化1]



式中、 R^1 , R^2 , R^3 は、水素原子、炭素数1～4のアルキル基であり、 R^4 , R^5 , R^6 は、水素原子、炭素数1～18のアルキル基又は炭素数1～18のエステル基の何れかである、

ホモオキサリックス〔3〕アレン誘導体を含むことを特徴とするイオン感応膜が提供される。

[0008] 本発明によればまた、上記イオン感応膜を使用して成り、不揮発性生体アミン類、特にチラミン及び／又はヒスタミンに対し電位応答挙動を示すことを特徴とするイオン選択性電極が提供される。

本発明によれば更に、上記イオン選択性電極から成る作用電極、及び参照電極を備えて成るイオンセンサが提供される。

[0009] 本発明によればまた、上記イオン感応膜を電界効果型のトランジスタのゲート部に接続して成り、不揮発性生体アミン類に対して電位応答挙動を示すことを特徴とするイオン選択性電界効果型トランジスタが提供される。

本発明によれば更に、上記イオン選択性電界効果型トランジスタから成る作用電極、及び参照電極を備えて成ることを特徴とするイオンセンサが提供される。

[0010] 本発明によれば更に、上記イオンセンサを用いて、食品中のチラミン及び／又はヒスタミン量を測定することを特徴とする食品鮮度管理方法が提供さ

れる。

発明の効果

[0011] 本発明のイオン感応膜においては、イオノフォアとして用いる上記式（１）で表されるホモオキサリックス〔３〕アレン誘導体が、カリウムイオン等の無機イオンの妨害を受けることなく、チラミンやヒスタミン等の不揮発性生体アミン類が有する一級アミノ基に基づく１価の陽イオン（ $R-NH_3^+$ ）を選択的に捕捉して膜側に移動分配可能であることから、本発明のイオン感応膜をイオンセンサのイオン選択性電極として使用すると、チラミン及び／又はヒスタミン等の１価陽イオンと錯体を形成することによりセンサ膜電位が上昇して、正の電位応答が生じることにより、チラミン及び／又はヒスタミンの濃度を定量的に測定することが可能になる。

また本発明のイオン感応膜は、製造及び取扱いが容易であり、しかも耐久性にも優れているので、チラミンやヒスタミン等の不揮発性生体アミン類を測定するためのイオンセンサのイオン選択性電極に使用することにより、食品中のチラミン及び／又はヒスタミンの濃度を容易且つ低コストで測定することが可能になる。

またこのように食品中のチラミン及び／又はヒスタミン量を低濃度から容易に測定することが可能になったことで、食品の腐敗を初期の段階で検知することが可能であると共に、食品の鮮度評価を数値化することが可能になり、食品の安全性と共に可食期間の適正化を図ることが可能になり、食品廃棄物の減量を図ることができる。

図面の簡単な説明

[0012] [図１]本発明のイオン選択性電極の一例を示す図である。

[図２]本発明のイオン選択性電極を作用電極として用いたイオンセンサの一例を示す図である。

[図３]各イオノフォアによるイオンセンサにより得られた電位応答とチラミン（Ａ）及びヒスタミン（Ｂ）の濃度の電位応答曲線を表す。

[図４]本発明のイオンセンサにより得られた電位応答とチラミン（図中Ｔ_yで

表す) 及びヒスタミン (図中Hisで表す) の濃度の電位応答曲線を表す。

発明を実施するための形態

[0013] (イオン感応膜)

本発明のイオン感応膜は、イオノフォアとして上記式(1)で表されるホモオキサリックス[3]アレン誘導体を用いることが重要な特徴であり、本発明においてはこのイオノフォアが、カリウムイオンやナトリウムイオン等の妨害を受けることなく、一級アミノ基を有する不揮発性生体アミン類の $R-NH_3^+$ イオンと選択的に安定な錯体を形成できることを見出し、不揮発性生体アミン類、特にチラミン及び／又はヒスタミンの定量分析に利用する。

上記式(1)で表されるホモオキサリックスアレン誘導体における R^1 , R^2 , R^3 は、水素原子、炭素数1～4のアルキル基であり、 R^4 , R^5 , R^6 は、水素原子、炭素数1～18のアルキル基又は炭素数1～18のエステル基の何れかであるが、好適には、 R^4 , R^5 , R^6 は C_4H_9 である。

本発明のイオン感応膜が選択的に捕捉可能な不揮発性生体アミン類としては、チラミン、ヒスタミン、プトレシン、アグマチン、オルニチン等を例示できるが、本発明に用いるイオノフォアは、特に食品腐敗の指標となるチラミン及び／又はヒスタミンに対して優れた選択性を有している。

[0014] 本発明のイオン感応膜は、上記イオノフォア、膜材料、可塑剤、及び必要に応じてアニオン性添加塩を用いて、製膜することにより得られる。

本発明のイオン感応膜に使用可能な膜材料としては、これに限定されないが、ポリ塩化ビニル、シリコンゴム、ポリ塩化ビニリデン、ポリウレタンウレア、フォトレジスト、漆等を例示することができるが、特にポリ塩化ビニルを好適に使用することができる。

また可塑剤は、膜材料を可塑化すると共に、イオノフォアを溶解するために配合する。このような可塑剤としては、これに限定されないが、4-ニトロフェニルフェニルエーテル、アジピン酸ビス(1-ブチルペンチル)、セバシン酸ジブチル、フタル酸ジブチル、フタル酸ジオクチル、ジオクチルフ

エニルリン酸、セバシン酸ジオクチル、2-ニトロフェニルフェニルエーテル、2-ニトロフェニルオクチルエーテル、ジベンジルエーテル、デカノール、2-ニトロフェニルドデシルエーテル、2-フルオロ-2'-ニトロジフェニルエーテル等を例示することができ、特に、セバシン酸ジオクチルを好適に使用することができる。

[0015] 更にアニオン性添加塩は、チラミン又はヒスタミンイオン ($R-NH_3^+$) を積極的に移動分配することで感応膜の性能を向上させるために配合する。このようなアニオン性添加塩としては、従来公知のイオン感応膜に使用されるものを使用することができ、これに限定されないが、テトラキス(4-クロロフェニル)ホウ酸カリウム、テトラキス(4-クロロフェニル)ホウ酸ナトリウム、テトラキス[3, 5-ビス(トリフルオロメチル)フェニル]ホウ酸カリウム、テトラキス[3, 5-ビス(トリフルオロメチル)フェニル]ホウ酸ナトリウム、テトラフェニルホウ酸カリウム、テトラフェニルホウ酸ナトリウム、テトラキス[3, 5-ビス(1, 1, 1, 3, 3, 3-ヘキサフルオロ-2-メトキシ-2-プロピル)フェニル]ホウ酸ナトリウム等を例示することができる。

[0016] 本発明のイオン感応膜は、上述したイオノフォア、膜材料、可塑剤、添加塩等の成分をテトラヒドロフラン等の適量の溶媒に混合、溶解して混合液とする。尚、上記各成分のイオン感応膜中の成分は、用いる化合物の種類によって異なり、一概に規定できないが、以下の範囲であることが好適である。

すなわち、イオノフォアは、感応膜100重量部に対して1~10重量部、特に2~5重量部で含有されることが好ましい。上記範囲よりもイオノフォアの量が少ないとイオン感応膜が目的のイオンを十分に捕捉することができず、感度が低下するおそれがあり、一方上記範囲よりも多くても経済性に劣るだけで更なる向上は望めない。また、膜材料は感応膜100重量部に対して20~40重量部、特に25~35重量部で含有されることが好ましい。上記範囲よりも膜材料の量が少ないとイオン感応膜の強度を十分に得ることができず、耐久性が低下するおそれがあり、一方上記範囲よりも多くても

経済性に劣るだけで更なる向上は望めない。可塑剤は、感応膜 100 重量部に対して 20～80 重量部、特に 50～70 重量部の範囲で含有されていることが好ましい。上記範囲よりも可塑剤の量が少ない場合には、製膜性に劣ると共に、イオノフォアの溶解が不十分になり、満足する性能が得られないおそれがあり、一方上記範囲よりも可塑剤の量が多いと、可塑剤の溶出など却って性能が劣るおそれがある。またアニオン性添加塩は、感応膜 100 重量部に対して 0.1～2 重量部の範囲にあることが好ましい。更に必要により使用される溶媒の量は、上記成分が全て溶解する量で使うことが、製膜性の点から好ましい。

[0017] 調製された混合液を、キャスト法、スプレー塗布、スパッタリング法、ディップ法、スピノフコート法等、従来公知の方法でガラス板等の基板上に塗布し、溶媒が完全に揮発するまで乾燥させて製膜する。

乾燥条件は用いる膜材料などによって異なり、一概に規定できないが、25～40℃の温度で8～16時間乾燥することが望ましい。

製膜されたイオン感応膜は基板から取り外してイオン感応膜として使用できるが、混合液を塗布する基板としてテフロン（登録商標）の多孔質膜等の多孔質膜を用い、多孔質膜と共に使用してもよい。

同様にイオン感応膜をイオン選択性電界効果型トランジスタに使用する場合には、調製された混合液を電界効果型トランジスタのゲート部に塗布することにより、イオン選択性電界効果型トランジスタとすることができる。

イオン感応膜の膜厚は、これに限定されないが、100～1000 μm の範囲にあることが好適である。

[0018] (イオン選択性電極)

本発明のイオン感応膜を用いたイオン選択性電極は、少なくともイオン感応膜、内部溶液、内部電極から成っている。

内部電極としては、これに限定されないが、Ag/AgCl、Hg/Hg₂Cl₂、Hg/Hg₂SO₄等を例示できるが、特にAg/AgClを好適に使用できる。

また内部溶液としては、これに限定されないが、硝酸銀水溶液、塩化カリウム水溶液、硝酸カルシウム水溶液などの金属塩水溶液や、塩化カリウム水溶液と他の金属塩水溶液の混合溶液等を例示できるが、特に塩化カリウム水溶液を好適に使用できる。

図1は、本発明のイオン感應膜を用いたイオン選択性電極の一例を示す図であり、全体を1で表すイオン選択性電極は、内部溶液2が満たされた支持管3の先端部にイオン感應膜4が取り付けられており、内部溶液2に内部電極5が挿入されている。

[0019] (イオンセンサ)

本発明のイオンセンサは、上記イオン選択性電極やイオン選択性電界効果型トランジスタを作用電極として用いる以外は、従来公知のイオンセンサと同様の構成を採用することができる。

図2は本発明のイオン選択性電極1を作用電極として用いた、イオンセンサの一例を示す図であり、電位差計10の一方に本発明のイオン選択性電極1を用い、他方に参照電極20を連結する。

本発明のイオンセンサにおいては、従来公知の参照電極を使用することができ、図2に示す具体例においては、先端に多孔質膜21が設置された外側支持管22の中に、先端に多孔質膜23が設置された内側支持管24が配置された参照電極20であり、外側支持管22に外部溶液25が、内側支持管24に内部溶液26が満たされている。内側支持管24には、内部電極27が挿入されている。

上記作用電極であるイオン選択性電極1及び参照電極20の先端を、例えば、チラミン及び／又はヒスタミンを含有する試料液30に浸漬することにより、試料液中のチラミン及び／又はヒスタミンイオン ($R-NH_3^+$) が選択的にイオン感應膜を通過することにより電位応答挙動を示し、電位差計によって電位応答量 (mV) が示される。この電位応答量から、ネルンストの式 (下記式 (2)) を用いて濃度が測定できる。

$$E = E_0 + (0.059 \text{ (V)} / n) \log C \quad \cdots (2)$$

式中、 E は電位（V）、 E_0 は標準電位（V）、 n は電荷数、 C は濃度（M）をそれぞれ表す。

尚、図4に後述する実施例で作成されたイオンセンサにより測定された電位応答とチラミン（図中、「Ty」で表す）及びヒスタミン（図中、「His」で表す）の濃度の電位応答曲線を表す。この図4から明らかなように、本発明のイオンセンサにおいては、チラミンが 10^{-6} M程度から、ヒスタミンが 10^{-4} M程度から電位応答しており、食肉等の初期腐敗におけるチラミンの下限量である 10^{-4} M以上を確保しており、実用的な濃度範囲を確保していることがわかる。

[0020] （食品鮮度評価）

本発明のイオンセンサは、前述したとおり、チラミン等の不揮発性生体アミン類の濃度を定量的に測定することが可能であることから、魚肉等の食品が腐敗することにより増加するチラミンを本発明のイオンセンサを用いて測定することによって、食品鮮度を評価することが可能になる。また、ヒスタミン量を本発明のイオンセンサを用いて測定することによって、食品鮮度の評価に加え、ヒスタミン中毒を予防するための評価が可能になる。

尚、チラミン及びヒスタミンは、酸性～中性領域でイオン化されるが、魚肉等の食肉は、腐敗が進むと乳酸が増えるため、本発明のイオンセンサは直接魚肉に適用しても、チラミン及び／又はヒスタミンの濃度を測定することができる。

実施例

[0021] 本発明を、次の実験例にて説明する。

<イオン感応膜およびイオン選択性電極>

下記の材料を小型ガラス瓶にて、テトラヒドロフラン2 mLに溶解した。

1. イオノフォア 2 mg
2. セバシン酸ジオクチル 66 mg
3. ポリ塩化ビニル 32 mg

これを直径3 cmのシャーレに静かに展開し、そのまま室温（約25度）

で約10時間放置し、揮発させることで透明なイオン感応膜を作製した。このようにして作製したイオン感応膜の膜厚は、約800 μm であった。

作製したイオン感応膜をシャーレより直径7 mmのパンチで打ち抜き、イオン選択性電極（F l u k a社製）に固定した。電極内部溶液として0.01 M塩化カリウム溶液を入れ、イオン選択性電極を作製した（図1参照）。

[0022] <イオンセンサ>

作製したイオン選択性電極と、参照電極（T O A / D K K社製、内部液：飽和塩化カリウム溶液、外部液：0.01 Mトリス塩酸緩衝液pH7.5）を、それぞれ電位差計に連結させ、イオンセンサを作製した。イオン選択性電極と参照電極の先端を試料液に浸漬させ、試料液のチラミン及びヒスタミンの測定を行った（図2参照）。

[0023] [実験例1～7]

イオノフォアとして表1に示す材料を用いて、イオン感応膜、イオン選択性電極、イオンセンサを作製した。チラミン、ヒスタミン、カリウム、ナトリウム各試料液は、 10^{-6}M から 10^{-2}M の濃度範囲になるように秤量し、0.01 Mトリス塩酸緩衝液pH7.5にて溶解し作製した。

各イオノフォアを含むイオンセンサにて、各試料溶液の各濃度に対する電位応答をイオンセンサにて測定した。測定結果を図3に示す。

また、この測定結果から電位応答の強さを、下記基準で判断し、結果を表1に示す。

電位応答の強さは、 10^{-6}M から理想的な電位応答を示すものを◎、 10^{-4}M 程度から理想的な電位応答を示すものを○、理想的な電位応答を得られなかったものを△、ほとんど電位の変化が見られなかったものを×とした。理想的な電位応答とは、濃度によって電位応答（mV）が変化し、上述したネルンストの式にて求める値と近似した挙動を示すものである。チラミンやヒスタミン以外の有機イオンや無機イオンに対して比較的低濃度側（ 10^{-4}M 程度）から電位応答を示すイオノフォアは、それらイオンがチラミン等と共存した場合、測定対象であるチラミンに対する電位応答を妨害することとな

り、その電位応答は、ネルンストの式にて求める値とは大きく異なってしまい、電位応答の変化が小さかったり、電位の変化が見られない結果となってしまう。

尚、用いた各イオノフォアは、ベンゾー１２－クラウン－４（Ｂ１２Ｃ４）、ベンゾー１５－クラウン－５（Ｂ１５Ｃ５）、ベンゾー１８－クラウン－６（Ｂ１８Ｃ６）、ジベンゾー１８－クラウン－６（ＤＢ１８Ｃ６）、カリックス〔４〕アレンエステル誘導体（ＣＡ〔４〕）、カリックス〔６〕アレンエステル誘導体（ＣＡ〔６〕）及びホモオキサカリックス〔３〕アレン誘導体（ＨＣＡ〔３〕）である。

[0024] [表1]

	イオノフォア	測定物質			
		チラミン	ヒスタミン	カリウム	ナトリウム
実験例1	B12C4	○	△	△	◎
実験例2	B15C5	○	△	△	×
実験例3	B18C6	○	△	○	×
実験例4	DB18C6	○	△	○	△
実験例5	CA[4]	△	×	△	◎
実験例6	CA[6]	◎	○	◎	△
実験例7	HCA[3]	◎	○	△	×

◎：非常に強い ○：強い △：弱い ×：応答なし

[0025] 表1に示すように、ＨＣＡ〔３〕をイオノフォアとして用いたイオンセンサは、妨害となる無機イオンの影響を受けず、チラミンに対して理想的な電位応答を得ることが確認できた。

[0026] ＜チラミン測定＞

チラミンを 1.0×10^{-6} Mから 1.0×10^{-2} Mの濃度範囲になるように秤量し、 0.01 Mトリス塩酸緩衝液 pH 7.5にて溶解した。実験例7で作製したイオンセンサにてチラミンに対する電位応答を測定した。結果を図4に示す。

[0027] ＜ヒスタミン測定＞

ヒスタミンを 1.0×10^{-6} Mから 1.0×10^{-2} Mの濃度範囲になるように秤量し、 0.01 Mトリス塩酸緩衝液 pH 7.5にて溶解した。実験例7で作製したイオ

ンセンサにてヒスタミンに対する電位応答を測定した。結果を図4に示す。

[0028] 図4に示すように、本発明のイオン感応膜より作製したイオンセンサにて、チラミン及びヒスタミンの電位応答を測定することで、電位応答曲線を得ることができる。よって、本発明のイオンセンサを用いると、チラミン及びヒスタミンの濃度を容易に定量測定できることが確認できた。

産業上の利用可能性

[0029] 本発明のイオン感応膜は、魚肉等の食肉の腐敗により生成されるチラミン及び／又はヒスタミンを選択的に捕捉できることから、チラミン及び／又はヒスタミンの濃度を容易且つ経済的に定量分析することができ、食品の鮮度評価或いは食品管理に有効に適用することができる。

特にサバ、マグロ、カツオ、カジキ、ブリ等の赤身の魚肉は腐敗によりチラミンやヒスタミンの生成が顕著であることから、本発明のイオンセンサはこれらの鮮度評価に有用である。またこれら魚肉以外にもチーズ等の発酵畜産食品の管理にも有効に適用することができる。

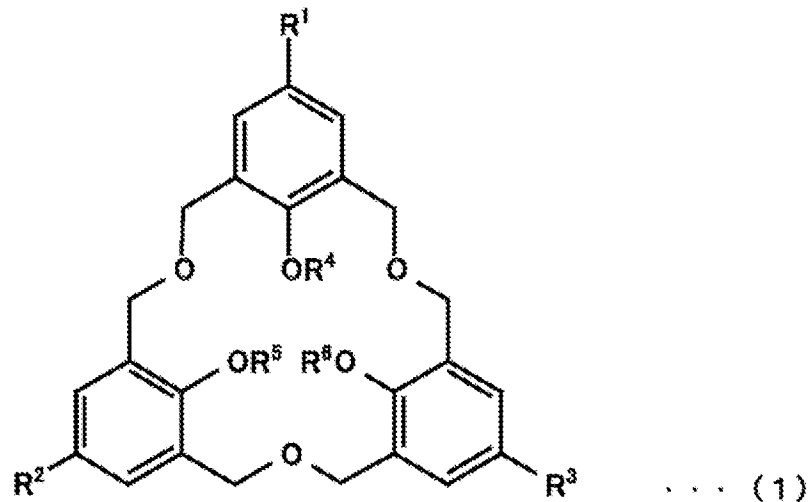
符号の説明

[0030] 1 イオン選択性電極、2 内部溶液、3 支持管、4 イオン感応膜、5 内部電極、10 電位差計、20 参照電極、30 試料液。

請求の範囲

[請求項1] イオノフォアとして、下記式

[化1]



式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 は、水素原子、炭素数1～4のアルキル基であり、 R^4 、 R^5 、 R^6 は、水素原子、炭素数1～18のアルキル基又は炭素数1～18のエステル基の何れかである、
で表されるホモオキサリックス〔3〕アレン誘導体を含むことを特徴とするイオン感応膜。

[請求項2] 請求項1記載のイオン感応膜を使用して成り、不揮発性生体アミン類に対して電位応答挙動を示すことを特徴とするイオン選択性電極。

[請求項3] 請求項2記載のイオン選択性電極から成る作用電極、及び参照電極を備えて成ることを特徴とするイオンセンサ。

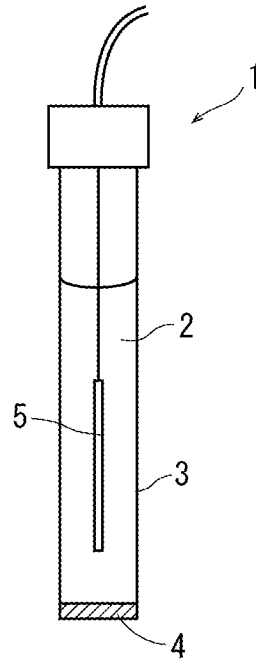
[請求項4] 請求項1記載のイオン感応膜を電界効果型のトランジスタのゲート部に接続して成り、不揮発性生体アミン類に対して電位応答挙動を形成することを特徴とするイオン選択性電界効果型トランジスタ。

[請求項5] 請求項4記載のイオン選択性電界効果型トランジスタから成る作用電極、及び参照電極を備えて成ることを特徴とするイオンセンサ。

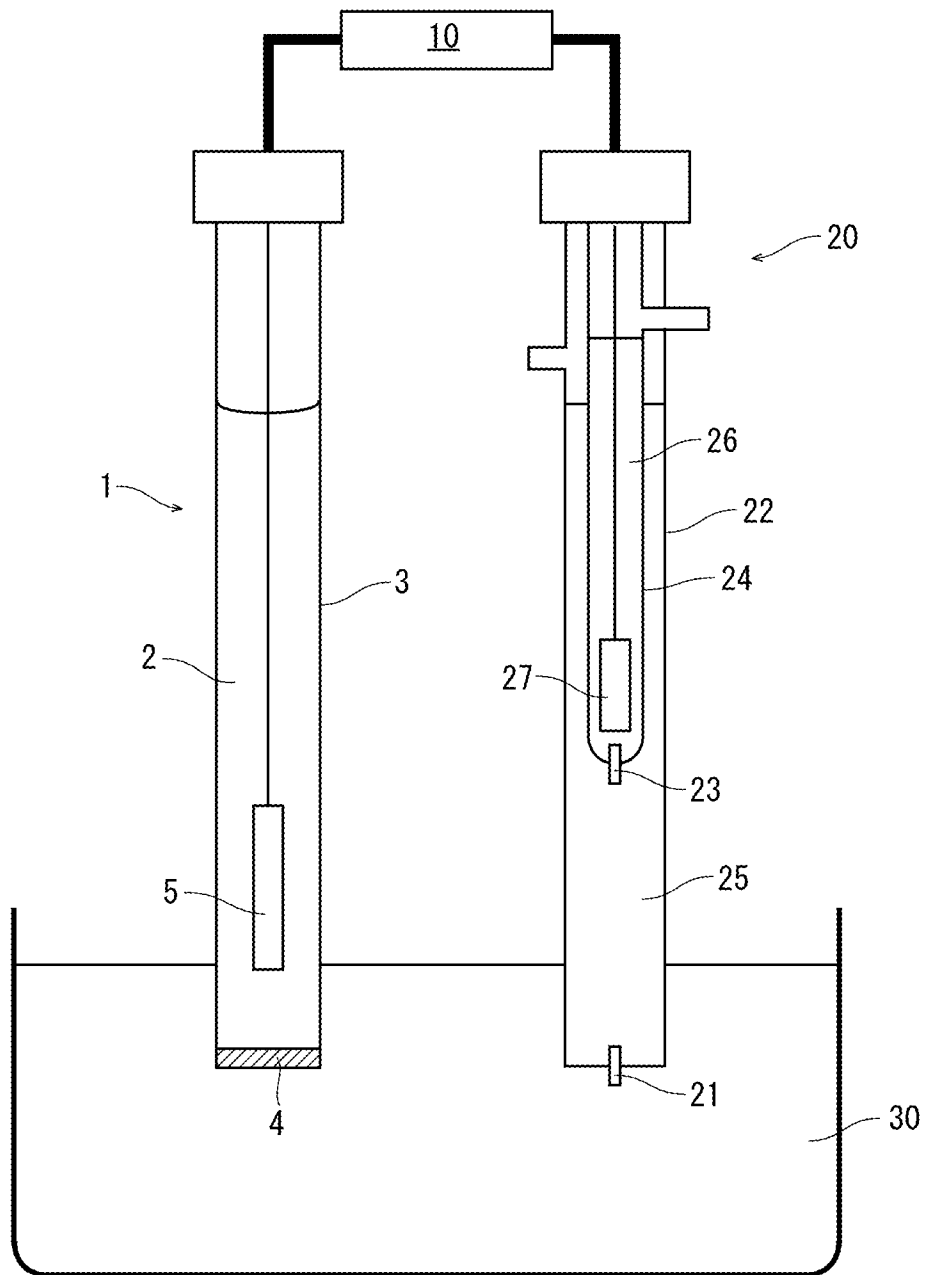
[請求項6] 請求項3又は請求項5記載のイオンセンサを用いて、食品中のチラミン及び／又はヒスタミン量を測定することを特徴とする食品管理方

法。

[図1]

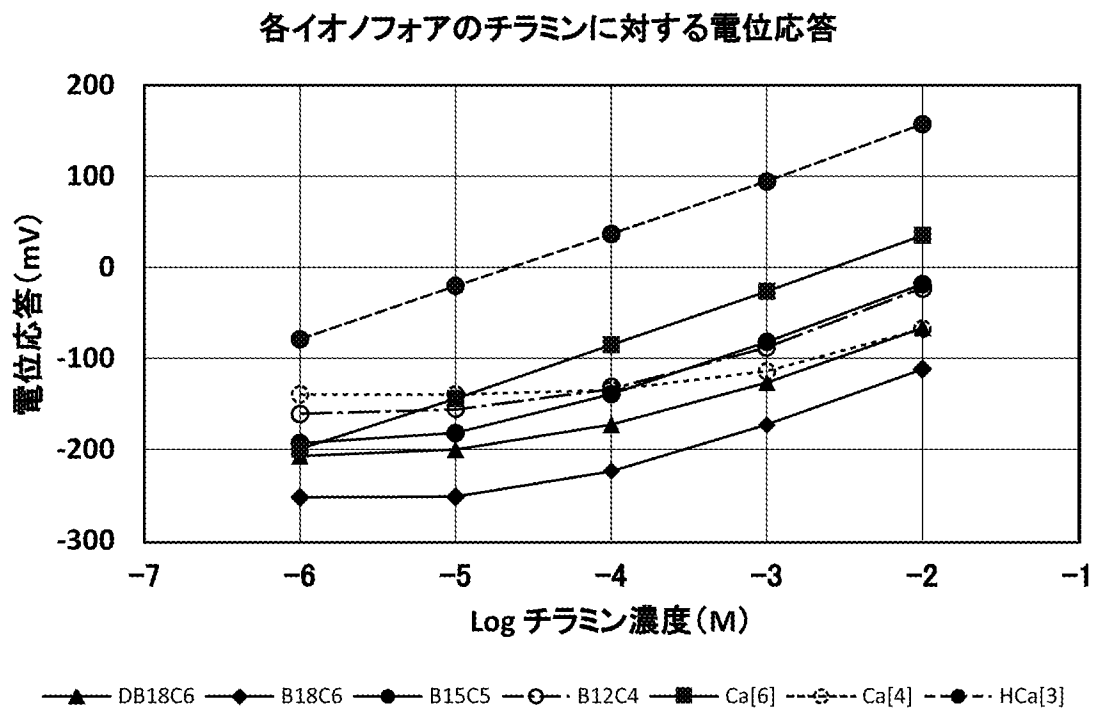


[図2]

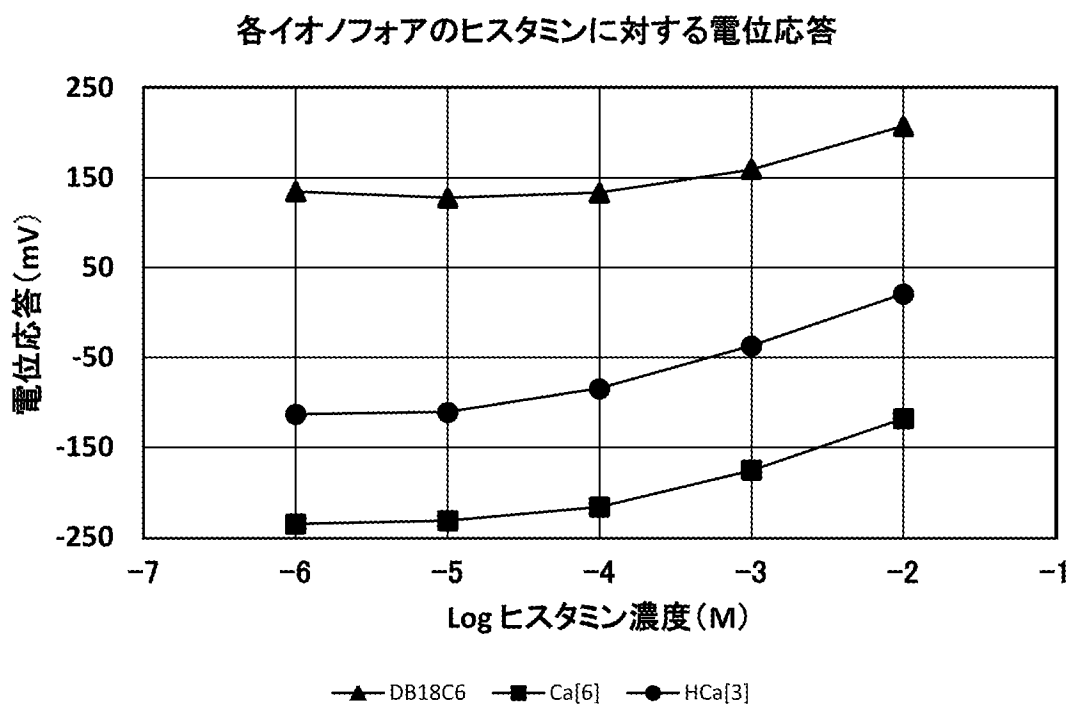


[図3]

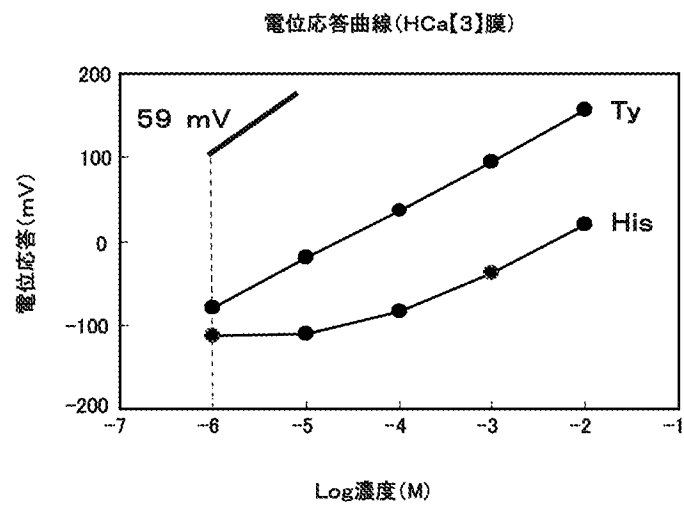
(A)



(B)



[図4]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/087266

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N27/333(2006.01) i, G01N27/414(2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N27/26-27/49

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2017
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2017	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2017

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	KATSU, Takashi et al., Homooxacalix[3]arene Derivatives as Ionophores for Serotonin-Selective Membrane Electrodes, Electroanalysis, 2003, Vol.15, No.4, p.287-293	1-3 4-6
Y	JP 2015-187600 A (Yamagata University), 29 October 2015 (29.10.2015), claims; paragraphs [0001] to [0004]; fig. 1, 3 (Family: none)	4-6
Y	JP 6-273378 A (Olympus Optical Co., Ltd.), 30 September 1994 (30.09.1994), paragraphs [0002] to [0005], [0021]; fig. 1 to 2 (Family: none)	4-6

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
10 February 2017 (10.02.17)

Date of mailing of the international search report
28 February 2017 (28.02.17)

Name and mailing address of the ISA/
Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/087266

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ARAKI, Koji et al., Syntheses and ion binding properties of novel cage molecules derived from homooxacalix[3]arene, Tetrahedron Letters, 2000, Vol.41, p.1807-1810	1-6
A	JP 6-201639 A (Research Development Corp. of Japan), 22 July 1994 (22.07.1994), entire text; all drawings (Family: none)	1-6
A	MARIA BOCHENSKA et al., Ion-selective electrodes based on p-tert-butyl-homooxacalixarene di(ethyl)amides, Supramolecular Chemistry, 2009, Vol.21, No.8, p.732-737	1-6

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. G01N27/333(2006.01)i, G01N27/414(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. G01N27/26-27/49

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2017年
日本国実用新案登録公報	1996-2017年
日本国登録実用新案公報	1994-2017年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	KATSU, Takashi et al., Homooxacalix[3]arene Derivatives as	1-3
Y	Ionophores for Serotonin-Selective Membrane Electrodes, Electroanalysis, 2003, Vol. 15, No. 4, p. 287-293	4-6
Y	JP 2015-187600 A (国立大学法人山形大学) 2015.10.29, 特許請求 の範囲、[0001] - [0004]、第1, 3図 (ファミリーなし)	4-6
Y	JP 6-273378 A (オリンパス光学工業株式会社) 1994.09.30, [00 02] - [0005]、[0021] 第1-2図 (ファミリーなし)	4-6

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

10.02.2017

国際調査報告の発送日

28.02.2017

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

黒田 浩一

2 J

9218

電話番号 03-3581-1101 内線 3252

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	ARAKI, Koji et al., Syntheses and ion binding properties of novel cage molecules derived from homooxacalix[3]arene, Tetrahedron Letters, 2000, Vol. 41, p. 1807-1810	1-6
A	JP 6-201639 A (新技術事業団) 1994. 07. 22, 全文、全図 (ファミリーなし)	1-6
A	MARIA BOCHENSKA et al., Ion-selective electrodes based on p-tert-butyl-homooxacalixarene di(ethyl)amides, Supramolecular Chemistry, 2009, Vol. 21, No. 8, p. 732-737	1-6