

222 酵素および酵素工学

- 647 アクリル樹脂による固定化酵素膜と酸素電極を組み合わせたグルコースセンサーの試作 (酸試、*若鶴酒造㈱) 佐無田隆、○神渡 巧、年代忠明*
太田剛雄、佐伯 宏、大場俊輝

1) 目的 酵素を多孔質膜材中に固定化し、電気的なデバイスと組み合わせたいわゆるバイオセンサーについては多くの報告があり醸造工程への使用も期待された。しかし、バイオセンサーはグルコースセンサーが医学関係を中心に使用されている程度で醸造工程では広く用いられる状況にはない。その原因としては市販されている酵素膜は酵素活性維持期間が短い上に高価であること、固定化酵素膜作製には高度の技術を要すること等が上げられる。醸造工程の管理にバイオセンサーは有効であると考えられたので、低コストで安定したバイオセンサー用固定化酵素膜の製造方法の確立を目的とした。

2) 方法 蒸留水に Glucose oxidase を溶解し、これに市販の水系合成樹脂エマルジョン塗料を加えて混合した後、ガラス板上に薄く広げた。室温で1~2h 風乾後、ガラス板から剥し、冷凍庫に保管した。耐久性試験用は樹脂膜を1%Glutaraldehyde水溶液で処理した。この固定化酵素膜とポーラロ式酸素濃度計及び透析膜を組み合わせて電極を構成し、30°C、pH6.8、0.05~0.1Mリン酸緩衝液9.9mlに0.1~10%(w/v)グルコース水溶液 0.1mlを添加した。

3) 結果 アクリル樹脂で酵素を固定した膜を電極の上に重ねただけでもグルコースを検出することができたが酵素活性の低下が著しかった。Glutaraldehydeで処理し、透析膜と重ねて用いることによりかなり改善された。厚さ90~12 μ mの固定化酵素膜を試作してグルコースによる応答を測定したところ、膜の厚さは薄いほど応答は早く直線性はよかった。電極における酸素濃度が約1ppm以上範囲で酸素とグルコース消費量との間に直線性が認められた。酵素剤の混和量は多いほど感度は高かったが、膜の強度は低下した。

Development of the glucose sensor combined oxygen electrode detector with the enzyme membrane immobilized by acrylic resin.

Takashi Samuta, Takumi Kamiwatari, Tadaaki Nendai, Takeo Ohta, Hiroshi Saiki and Toshiteru Ohba
(National Research Institute of Brewing, Takinogawa Kita-ku, Tokyo 114)

- 648 アクリル樹脂-セルロース固定化酵素複合膜と酸素電極を組み合わせたグルコースセンサーの特性
(酸試) ○佐無田隆、神渡 巧、太田剛雄、大場俊輝

1) 目的 アクリル樹脂による Glucose oxidase 固定化膜を用いたグルコースセンサーはアクリル樹脂膜が薄いほど応答は早く、直線性はよいが、10 μ m以下の薄い膜は製造及び取扱いが困難である。透析膜の片側にアクリル樹脂により酵素を固定化し複合膜とすると容易に薄い固定化酵素膜とすることができるのでその特性を検討した。

2) 方法 前報¹⁾と同様蒸留水に Glucose oxidase を溶解し、これに水系合成樹脂エマルジョン塗料を加えて混合し、透析膜(膜厚15 μ m)に薄く塗り、室温で60分風乾、さらに耐久性試験用は1%Glutaraldehyde水溶液で処理、水洗・風乾後、冷凍庫に保管した。アクリル樹脂を塗った部分の厚さは19~25 μ mでありアクリル樹脂の厚さは4~10 μ mと推察された。容積2mlのセルを用い回分式及び流通式によりグルコースによる応答を測定した。

3) 結果 30°Cにおいて回分法により2mlのセルに10%(w/v)グルコース水溶液10 μ lを添加した場合、電圧減少値の定常値の90%に達する時間は、応答を開始してから約10sであったが、再現性がよくなかった。流通式(緩衝液流量5ml/min)により、セルの入口に同量のグルコース水溶液を注入した場合、応答開始約20s後に最大値となるピークを得、再現性はよかった。アクリル樹脂で固定しただけでは酵素の活性低下が著しく、30°Cにおいて24h後には測定開始直後の68%まで低下した。20°Cにおいてはやや安定であったが24h後には初期活性の91%に低下した。1%Glutaraldehydeで処理した場合、酵素活性は安定化し6日間経過後においても初期の活性をほぼ100%保持しており実用に耐えたと推察された。

1) 佐無田ら: 平成2年度日本醗酵工学大会講演要旨集

Characteristics of the glucose sensor combined oxygen electrode detector with the immobilized enzyme membrane composed of acrylic resin and cellulose.

Takashi Samuta, Takumi Kamiwatari, Takeo Ohta, and Toshiteru Ohba
(National Research Institute of Brewing, Takinogawa Kita-ku, Tokyo 114)