

呼気中の乳酸濃度測定用バイオセンサーの作製

東 北 大 学 安 斉 順 一
(共同研究者) 同 鈴 木 巖
同 陳 強

The Development of Biosensors for the Determination of Lactic Acid in Expiration

by

Jun-ichi Anzai, Iwao Suzuki, Qiang Chen,
*Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Tohoku University*

ABSTRACT

Electrochemical biosensors were developed for the determination of lactic acid in expiration. The lactic acid biosensors were fabricated using a platinum (Pt) disk electrode coupled with a thin film of immobilized enzyme (lactate oxidase, LOx) The surface of the Pt electrode was modified with LOx thin film by two different procedures; a cross-linking method and a multilayer film method. The cross-linking method employed bovine serum albumin (BSA) and glutaraldehyde together with LOx, in which BSA and LOx were chemically cross-linked with glutaraldehyde to form thin films on the surface of the Pt electrode. On the other hand, in the multilayer method, a mannose-labeled LOx and Con A were deposited alternately on the surface of the Pt electrode to form a layer-by-layer thin films. Both techniques gave useful biosensors to determine lactic acid in solution. Both sensors exhibited useful calibration graphs over the lactate concentration of 0.01-3 mM in solution. For the purpose of using the biosensors to determine lactic acid in expiration, the surface of the sensor was covered with a

dialysis membrane to form an aqueous gel layer adjacent to the electrode surface. The dialysis membrane-covered sensors, unfortunately, showed very small response to expiration, probably due to the low concentration of lactic acid in the expiration. In order to improve the performance of the biosensors, lactic acid should be concentrated in the aqueous gel layer or on the surface of the electrode.

要 旨

乳酸オキシダーゼと白金電極を組み合わせて乳酸を測定するためのバイオセンサーを作製した。架橋法と積層膜法の2通りの方法で白金電極の表面に乳酸オキシダーゼを固定化して乳酸センサーとした。架橋法では酵素と牛血清アルブミンをグルタルアルデヒドで架橋する方法を採用した。また、積層膜法では、マンノース修飾酵素とコンカナバリンAを交互に累積固定化して薄膜とする方法によった。いずれの方法で作成した乳酸センサーも、溶液中の乳酸に対しては良好な応答性を示した。しかし、前者の方法では作成されるセンサーの応答特性の再現性に難があること、また後者の場合には、作製に長時間を要することの欠点を有している。呼気中の乳酸を測定するために、センサーの電極表面をさらに含水ゲル膜（透析膜）で被覆して、電極表面を溶液中と類似の環境にした。含水ゲル膜を用いて電極表面に疑似溶液環境をつくることにより、このセンサーは空気中でも電流測定ができることが明らかになった。しかし、この状態でセンサー表面に呼気を吹きかけてセンサーの応答を検討したが、良好な結果を得ることができなかった。これは、センサーの構造上の欠陥ではなく、呼気中の乳酸濃度が低いことによるものと推定される。呼気中の乳酸を測定するためには、センサー表面で乳酸を濃縮するなど、今後何らかの方策を検討する必要がある。