

## 酵素サイクリング法を用いたホルムアルデヒド高感度センサーの開発

○瀧本 悠貴<sup>\*1)</sup>、月精 智子<sup>\*1)</sup>、城 照彰<sup>\*2)</sup>、紋川 亮<sup>\*1)</sup>、和田 俊明<sup>\*3)</sup>、左成 信之<sup>\*3)</sup>

■キーワード ホルムアルデヒド、酵素サイクリング法、水溶性テトラゾリウム塩

1. 酵素サイクリング法を用いた高感度かつ高選択的なホルムアルデヒドセンサー
2. 簡易で小型化可能
3. 酵素の種類を変えることで、さまざまな物質の検出に応用可能

### ■研究の目的

ホルムアルデヒドは、防腐剤や樹脂などに広く使われている揮発性有機化合物であるが、低濃度でシックハウス症候群や癌などを引き起こすリスクがあるため、簡易で高感度なセンサー開発が求められている。本研究では、酵素サイクリング法と吸光度測定を用いて、簡易かつ高感度、高選択性及び迅速な応答性を持ったホルムアルデヒドバイオセンサーの開発を行った。

### ■研究内容

#### (1) 実験方法

酵素サイクリング法において、ホルムアルデヒド (FA) は、FA 脱水素酵素 (FALDH) と NAD<sup>+</sup> によりギ酸へと酸化する (図 1)。生成した NADH とジホラーゼ (DI) によりテトラゾリウム塩 (WST-8) を還元し、ホルマザン色素を生成する。その 460nm における吸光度を測定することで、FA の検出を行う。

リン酸緩衝液 (pH8.0、100mM) を用いて、EDTA 0.1mM、NAD<sup>+</sup> 0.3mM、FALDH 1.0U/mL、DI 1.0U/mL、WST-8 1.0mM となるように反応溶液を調整した。FA 溶液測定では、FA 溶液 (10 ~ 500ppb) を反応溶液に加えて攪拌し、3分後に吸光度を測定した。FA ガス測定では、パーミエーターで目的濃度 (5 ~ 80ppb) に制御した FA ガスを反応溶液に5分間バブリングした後、吸光度を測定した。

#### (2) 結果及び考察

FA 溶液及び FA ガスの吸光度測定結果を図 2 及び図 3 に示す。FA 溶液測定において、FA 濃度と吸光度の間には直線性があり、定量性が確認された。検出限界は 3.3ppb であった。また、FA ガス測定においても直線性があり、定量性が確認された。検出限界は 1.5ppb であった。さらに、FA に対する高い選択性が得られ、ギ酸、アセトン、エタノール及びメタノールは検出されず、アセトアルデヒドもほぼ検出されなかった (図 4)。以上より、高感度かつ高選択的に FA を検出することに成功した。

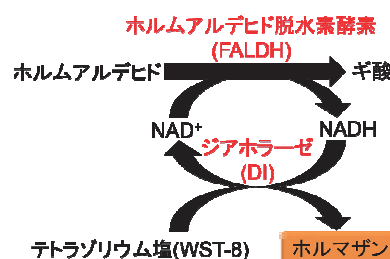


図 1. ホルムアルデヒド検出原理

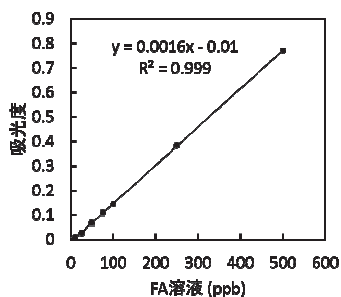


図 2. FA 溶液の検量線

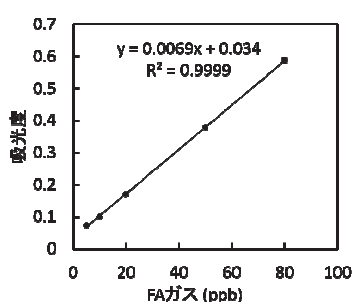


図 3. FA ガスの検量線

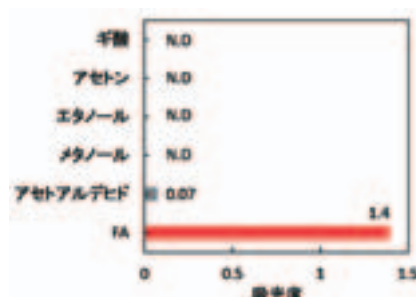


図 4. センサーの選択性

### ■研究の新規性・優位性

本研究で開発したセンサーは、HPLC や GC/MS と比較して、小型で携帯可能であり、操作も容易である。また、酵素を用いることで、従来のガス検知管や化学センサーと比べ、高感度かつ高選択性を有している。

### ■産業への展開・提案

- ①特許使用許諾
- ②ホルムアルデヒドガスセンサーの製品化
- ③酵素の種類を変え、他の物質のセンサーに応用

### ■研究に関連した知財

・特願 2014-001895

### 参考文献

[1] A. Monkawa, T. Gessei, Y. Takimoto, N. Jo, T. Wada, N. Sanari, Sens. Actuators B: Chem., Vol.210, pp.241-247 (2015)

\*1) バイオ応用技術グループ、\*2) 開発企画室、\*3) 柴田科学株式会社

H24.4 ~ H25.3【共同研究】ホルムアルデヒド検出用高感度バイオセンサの開発