

J109

リパーゼ固定化エレクトロスピニング不織布の開発とエステル交換反応

(九大院工)○(学)劉玉平・(正)境 慎司*・(福岡工技セ)(学)山口 哲・(日本バイーン)
渡邊 理恵・川部 雅章・(九大院工)(正)武井 孝行・井嶋 博之・川上 幸衛

【緒言】

近年、グリーンケミストリーの観点から酵素の工業的プロセスへの応用に関する研究が盛んに行われている。酵素等の触媒を用いた物質生産においては、触媒を担体に固定化することでその回収や連続操作が容易となる。エレクトロスピニング法は、静電的反発力を応用して数十ナノ～数マイクロメートルの均一な径の繊維を作製する技術である。これにより得られる繊維は、単位体積・単位質量あたりの表面積が非常に大きく、酵素固定化担体として魅力的である。本研究ではエレクトロスピニング法で得られるポリアクリロニトリル(PAN)繊維にリパーゼを吸着固定化し、バイオディーゼル燃料の生産用触媒としての評価を行った。

【実験方法】

リパーゼ固定化不織布の作製 20 mg 不織布 PAN ファイバーを 3 mm×3 mm の大きさに細切後、8 mg/ml のリパーゼ (PS アマノ SD: 5.6 μg protein/1mg reagent powder) 溶液 10 ml に室温で 11 時間浸しリパーゼを吸着させた。その後、1 日間凍結真空乾燥を行った。

(S)-グリシドールと酪酸ビニルのエステル交換反応

35°C に保温したイソオクタン中での(S)-グリシドール (20 mM) と酪酸ビニル(400 mM)とのエステル交換反応により酵素活性の評価を行った。

バイオディーゼル系反応実験 キャノーラ油: *n*-ブタノール = 1:3 (モル比)となるように混合し、リパーゼ、リパーゼ不織布投入した後、任意の時間でサンプリングし、ガスクロマトグラフィーにより生成物濃度の変化を測定することで反応初速度を算出した。反応温度は40°Cとし、反応開始溶液中に含まれる水分量を 1500, 8000, 15000 ppm と変化させその影響を調べた。

【結果と考察】

8 mg/ml のリパーゼ粉末溶液に 11 時間浸すことで、単位担体量当たり約 8.0 μg リパーゼを吸着させることができた。このリパーゼ担持不織布を用いて行ったイソオクタン中でのエステル交換反応における単位タンパク質量あたりの酵素活性を Fig. 1 に示す。PAN 不織布上のリパーゼは、未処理のリパーゼと比べて約 10 倍高い活性を示した。これは、試薬のリパーゼ粉末中ではリパーゼが安定化剤で覆われ、また凝集しているのに対して、不織布表面に吸着固定化することにより、

有効に反応に関与できるリパーゼ分子数が増大したことが要因の一つと考えられる。これに加えて、疎水的な PAN との相互作用によるコンフォメーション変化による活性化も寄与していると考えられる。Fig.2 にバイオディーゼル生産反応における水分濃度と反応初速度の関係を示す。リパーゼとリパーゼ不織布は水分濃度の上昇とともに反応初速度も上昇し、15000 ppm で最高値を示した。水分濃度 15000 ppm において、リパーゼ不織布の酵素活性はリパーゼ粉末と比べて 20 倍以上高い活性を示し、本触媒の有用性が示唆された。

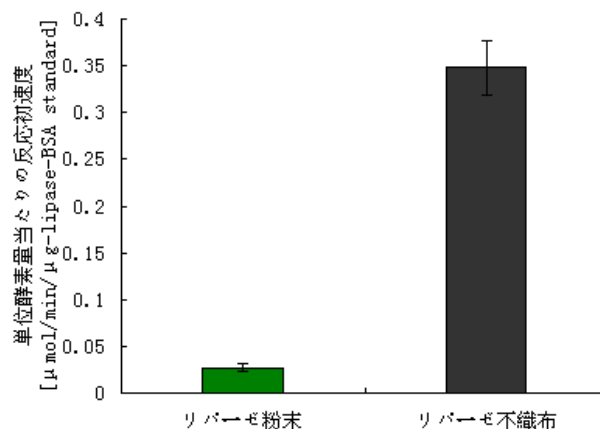


Fig.1 グリシドールと酪酸ビニルのエステル交換反応系でのタンパク質量あたりの反応初速度($n=3$, Bars; S.D.).

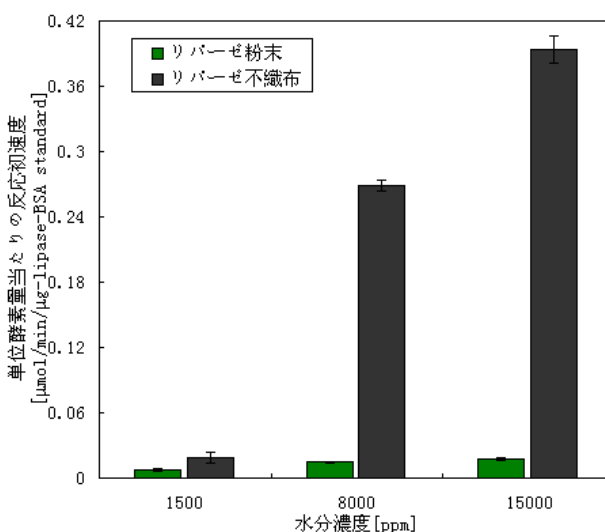


Fig.2 バイオディーゼル系反応系で反応溶液中の水分濃度とタンパク質量あたりの反応初速度の関係($n=3$, Bars; S.D.).

E-mail : sakai@chem-eng.kyushu-u.ac.jp