

B201

酵素保護機能を有する多孔性中空系膜の開発

(北九州高専) (正)後藤宗治* 太田亮介 (北九市大国際環境工)(正)上江洲一也
(佐大理工)(正)川喜田英孝 (九大工)(正)後藤雅宏

1. 緒言

酵素を有機溶媒中で使用する方法として界面活性剤や高分子で酵素を修飾する修飾酵素法が開発された。修飾酵素を固定化すればさらに効率の良い反応系の構築が期待できる。修飾及固定化能力を有する官能基をポリエチレン中空系細孔内へ導入した担体を調製し、酵素を固定化した固定化酵素を用いて非水媒体中におけるエステル合成活性を測定し官能基の種類が酵素活性に及ぼす影響を検討した。その結果、水酸基やカチオン性官能基を有する官能基を導入した場合、著しい酵素活性の上昇と安定性が確認された。さらに、カチオン性の官能基を有するジエチルアミンを導入した場合は、酵素を中空系細孔内に多層固定化できた。今回は上記固定化酵素結果より、高活性保持および多層固定化能力を有する官能基(アミノエタノール)を導入した中空系に酵素を固定化し、その活性を評価した。

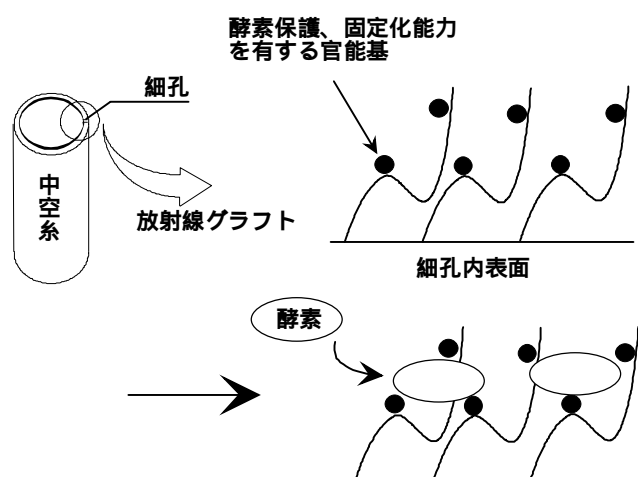


図1. 酵素固定化および保護能力を有する担体の模式図

2. 実験

2.1 酵素固定化膜の調整

ポリエチレン製多孔性中空系膜に放射線を照射しグリシジルメタクリレート (GMA) を中空系細孔内へグラフト重合 (グラフト率 109%) した膜(GMA-Fiber)を調製した。この膜をアミノエタノール:エタノール=50v%:50v%の 40 溶液で処理し GMA のエポキシ基とアミノエタノールを反応させて、カチオン性の部位と水酸基の部位を有するポリマーブラシを導入した膜を調製した(AE-Fiber)。

2.2 固定化リパーゼの調製

Rhizopus oryzae 起源のリパーゼを 0.01M リン酸緩衝液に溶解させ 0.5kg/l の酵素溶液を調製した。この溶液を上記

で調製した膜の内側に加圧して供給し、中空系細孔内を透過させ中空系細孔内に酵素を吸着させた。酵素の吸着量は細孔透過前後の酵素濃度(280nm)より測定した。酵素吸着後の中空系を 0.25w%のグルタルアルデヒドで 37、24 時間反応させ、酵素分子間の架橋処理を行った。

2.3 固定化酵素の活性評価

ラウリン酸 6mM、ベンジルアルコール 12mM を含むイソオクタン中で反応温度 37、攪拌速度 200rpm で反応を行った。生成物であるラウリン酸ベンジルを GC(HP5890)で分析し、単位リパーゼ量あたりのラウリン酸ベンジルの生成速度を求め活性を評価した。

連続反応活性の測定は酵素を固定化した中空系の一端を閉じ、反応溶液をロータリーポンプを用いて酵素固定化中空系の内側に供給し、中空系細孔内へ透過させ反応を行った。

3. 結果及び考察

AE-fiber に酵素を 1 層固定化した場合の酵素活性が空間速度に及ぼす影響を図2 に示す。空間速度の増加に伴い、細孔内に固定化された酵素への基質の物質移動が促進されバッチ反応の場合と比較して 5 倍以上の活性となった。また、前回の報告において、1 層酵素を固定化した場合、単位酵素あたりの活性が最も高かった OH-fiber に酵素を固定化した場合の結果と比較して、約 40mol/(h kg-lipase)高い活性を示した。上記の結果より酵素を固定化するには水酸基の存在が活性の保持に大きく影響しているものと考えられる。

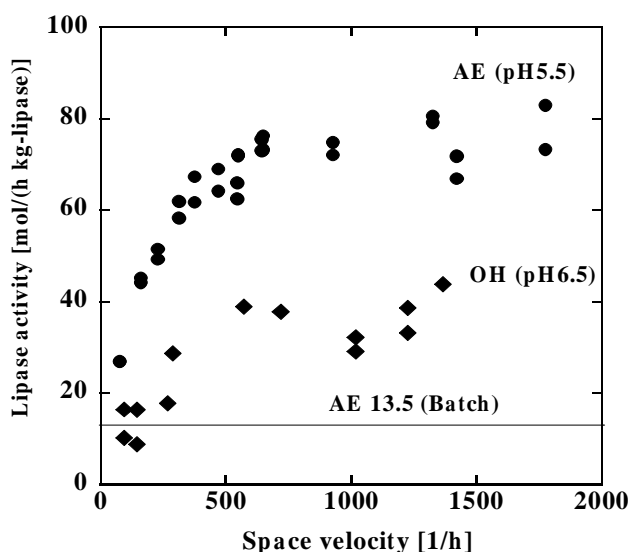


図2 空間速度が固定化酵素活性に及ぼす影響

*FAX 093-964-7308 E-mail: goto@kct.ac.jp