

アルコール酸化酵素と蟻酸酸化酵素を併用した フィルタ素材の開発

森川 豊^{*1}、近藤徹弥^{*1}、杉山信之^{*1}

Development of Filter Material Using Co-Immobilized Alcohol Oxidase and Formate Oxidase from *Paecilomyces variotii*

Yutaka MORIKAWA^{*1}, Tetsuya KONDO^{*1},
and Nobuyuki SUGIYAMA^{*1},

Food Research Center, AITEC^{*1}

ホルムアルデヒド及びホルムアルデヒドの酸化により発生する蟻酸の除去を目的に、*Paecilomyces variotii* (IRI017 株) 菌体由来の粗酵素液をシリカゲルに固定化した酵素固定化剤を開発した。IRI017 株由来の粗酵素液をイオン結合した酵素固定化ゲルは、高いアルコール酸化酵素活性と蟻酸酸化酵素活性を示した。この酵素固定化ゲルはガス中のホルムアルデヒド(0.23-0.64ppm)を 28 日間、30-50%除去し続け、さらに二次産物である蟻酸も除去することが確認された。

1. はじめに

近年では、建築物以外の居住空間の空気質にも関心が及び、シックカー症候群対策として日本自動車工業会が 2007 年以降の新車内の揮発性有機化合物 (VOC) 指針値を掲げるなど、VOC による居住空間汚染問題への関心は、年々高まっている。

このような中、VOC 除去を目的に、プラズマや触媒などによる様々な酸化機構を用いた空気清浄機の開発が行われている。これらの開発品による VOC 除去の際、二次的に発生する物質が空気質を汚染する、いわゆる二次汚染まで配慮する必要が生じている。

これまでに当センターでは、*Paecilomyces variotii* IRI017 由来の、ホルムアルデヒドを酸化可能なアルコール酸化酵素 (AOX) を用い、ホルムアルデヒド除去フィルタを開発した¹⁾²⁾。IRI017 由来の粗酵素液は、ホルムアルデヒド酸化により生じる蟻酸を酸化する蟻酸酸化酵素 (FOX) 活性も有している。蟻酸を酸化し二酸化炭素とすることにより、居住空間の二次汚染を防ぐことができる。そこで、本研究では、フィルタ素材開発を目的に AOX と FOX を固定化したシリカゲル (以下、酵素固定化ゲル) を調製し、ホルムアルデヒド及び蟻酸酸化に関する諸性質を調べた。

2. 実験方法

2.1 粗酵素液

粗酵素液はホルムアルデヒド分解微生物 *P. variotii* IRI017¹⁾ 菌体の無細胞抽出液を既報³⁾と同様に精製し、得られた透析液を粗酵素液として用いた。

2.2 酸化酵素活性の測定

粗酵素液の FOX 活性の測定は、既報³⁾と同様に行った。アルコール酸化酵素 (AOX) 活性の測定は FOX の測定に準じた。但し、緩衝液の pH は 8.0、基質をメタノールに換えて行った。なお、1 分間あたりに 1 µg の基質を酸化した場合、1U と定義した。

2.3 固定化酵素の作製

2 種類のシリカゲルは、富士シリシア (株) から提供された。シリカゲルの細孔容積は 1.63mL/g、平均細孔径 69.6nm、比表面積 63m²/g であった。また、シリカゲルの細孔容積は 1.70mL/g、平均細孔径 39.9nm、比表面積 104m²/g であった。各々のシリカゲルに、既報³⁾に準じて酵素をイオン結合、ペプチド結合または、グルタルアルデヒド架橋して酵素固定化ゲルを調製した。

2.4 酵素固定化ゲルによるホルムアルデヒドガス除去

ホルムアルデヒドガスの発生及び測定は既報²⁾に準じて行った。なお、ホルムアルデヒドの酸化によってガス中に発生する蟻酸は、既報³⁾の蟻酸捕捉カートリッジを用いて捕集した。捕集した蟻酸は、イオン交換水 25mL で溶出させ、溶出液中の蟻酸濃度を HPLC で測定した。

*1 食品工業技術センター 応用技術室

3. 実験結果及び考察

3.1 酵素固定化剤の酸化酵素活性

AOX、FOX の比活性がそれぞれ 3.62U/mL 及び 4.91U/mL の粗酵素液を固定化に使用した。シリカゲルを用いた酵素固定化ゲルの酸化酵素活性を **図 1** に示した。

ペプチド結合を用いた場合、酵素固定化ゲルの活性は他の固定化方法よりかなり低い値となった。これは、固定化に用いた溶媒や N,N-ジシクロヘキシルカルボジイミドによる影響と考えられた。既報³⁾の *Aspergillus nomius* IRI013 由来の FOX に比べ、本実験に使用した粗酵素液の FOX はペプチド結合時の活性低下が大きかった。

酵素固定化ゲルの AOX 活性は、イオン結合による場合、最も高く (0.43U/g-gel) FOX 活性はグルタルアルデヒド架橋を用いた時、最大 (0.83U/g-gel) となった。これら酵素固定化ゲルの各酸化酵素活性値は、既報³⁾と同様に粗酵素液の約 10 分の 1 であった。

酵素固定化が容易で、ホルムアルデヒド酸化に関わる AOX 活性が大きいイオン結合の酵素固定化ゲルが望ましいと考えられたため、以降の試験に供することとした。

なお、図示はしないが、シリカゲルを用いた酵素固定化ゲルの酸化酵素活性は、イオン結合において、AOX 0.39U/g-gel、FOX 0.59U/g-gel、グルタルアルデヒド架橋において AOX 0.16U/g-gel、FOX 0.86U/g-gel であり、ペプチド結合を用いた場合、シリカゲルと同様に、他の固定化方法よりかなり低い値となった。平均細孔径が小さいシリカゲルのイオン結合酵素固定化ゲルは、シリカゲルのイオン結合酵素固定化ゲルより AOX 活性が低くなった。このことは、平均細孔径が 10-100nm のシリカゲルでは、細孔径が大きいほど酵素固定化ゲルのホルムアルデヒド分解能力が上がるという従来の結果⁴⁾と一致した。

3.2 酵素固定化ゲルによるホルムアルデヒドガス除去

加熱して酵素活性を低下させた酵素固定化ゲルを混合し、酸化酵素活性が AOX 0.08U/g-gel 及び FOX 0.03U/g-gel である酵素固定化ゲルの試験区 AF と AOX 0.07U/g-gel 及び FOX 0.00U/g-gel である酵素固定化ゲルの試験区 A only を作成した。各々の試験区に、28 日間ホルムアルデヒドガス (0.23-0.64ppm) を連続的に通気した際のホルムアルデヒド除去率及び、ガス中に存在する蟻酸濃度の変化を **図 2** に示した。試験期間中、両試験区とも約 30-50% のホルムアルデヒド除去率を示した。一方、試験開始直後のガス中蟻酸濃度は共に 0.0% であったが、ホルムアルデヒドガスの通気に伴い上昇した。これは、AOX によるホルムアルデヒド酸化によるものと思われた。なお、蟻酸濃度が上下したのは通気したホルムアルデヒド濃度の変化の影響が考えられた。試験区 AF のガス中蟻酸濃度 (0.0-0.05 $\mu\text{g/L-gas}$) は、試験区 A only (0.0-0.18 $\mu\text{g/L-gas}$) に比べかなり低い値を示

した。このことから、酵素固定化ゲルの FOX 活性による蟻酸除去効果が確認された。酵素固定化ゲルの FOX 活性を大きくすることにより、蟻酸濃度を更に低くできるものと考えられた。

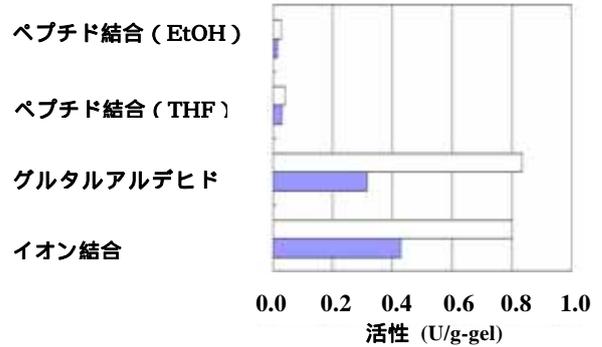


図 1 酵素固定化ゲルの酸化酵素活性

シリカゲルを用いた酵素固定化ゲルのアルコール酸化酵素活性 ()、蟻酸酸化酵素活性 ()、ペプチド結合の () 内には、固定化に使用した N,N-ジシクロヘキシルカルボジイミドの溶媒を示した。

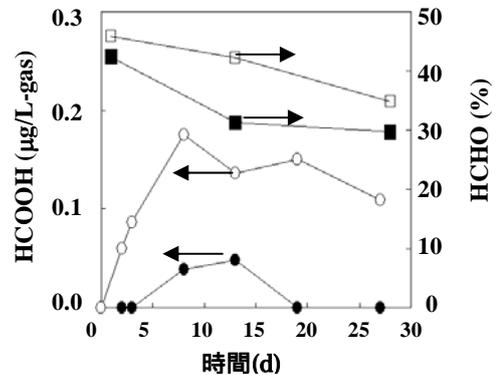


図 2 酵素固定化ゲルによるホルムアルデヒドガス除去試験区 AF (AOX 0.08U/g-gel、FOX 0.03U/g-gel) のホルムアルデヒド除去率 () と蟻酸濃度 () 及び、試験区 A only (AOX 0.07U/g-gel、FOX 0.00U/g-gel) のホルムアルデヒド除去率 () と蟻酸濃度 ()。

4. 結び

イオン結合により、AOX 及び FOX を高効率でシリカゲルに固定化した酵素固定化ゲルを開発した。酵素固定化ゲルの酵素活性が大きいほど、空気中のホルムアルデヒド及び二次産物である蟻酸の除去率は向上した。

謝辞

本研究は、エコトピア科学研究所共同研究事業により行った。ここに記して謝意を表する。

文献

- 1) 特許第 3774774
- 2) 特開 2003-052355
- 3) 森川ほか：愛知県産業技術研究所研究報告，4，162 (2005)
- 4) 森川ほか：平成 14 年度室内環境学会総会講演要旨，160 (2002)