

固定化コレステロールエステラーゼによるフタル酸エステル類の分解プロセスの開発

加藤且也、斎藤隆雄、Roxana Irimescu、横川善之
産業技術総合研究所 セラミックス研究部門

【目的】プラスチック可塑剤・樹脂・非イオン性界面活性剤原料剤など一般産業化学物質が、強い内分泌攪乱活性を有することが明らかとなってきた。これらの化合物は環境中に低濃度及び広範囲に存在しており、その効率的分解処理技術の確立が求められている。本研究では、内分泌攪乱活性を有していると考えられているフタル酸エステル類の酵素分解法の確立を目指し、加水分解酵素の検索及び固定化による反応プロセスの検討を行った。

【方法及び結果】加水分解酵素活性の検索用基質として、新規に合成した *p*-ニトロフェニル 2-エチルヘキシルフタレート(pNPEHP)を用いて、入手可能な酵素を用いて加水分解活性をスクリーニングした。その結果、Porcine Pancreas リパーゼ(PPL SIGMA 社製)が高い酵素活性を示すことが分かった。さらにこの PPL 中に含まれていると考えられるコレステロールエステラーゼ(CE)が、pNPEHP に対して最も高い分解活性を有することが明らかとなった。さらにフタル酸エステル類の分解プロセスの構築のため、CE の多孔体セラミックスに対する吸着固定化を行った。固定化には、表面修飾セラミックス担体(東洋電化製)を用いた。様々なシランカップリング剤による表面修飾を行い吸着固定化能を検討したところ、ビニルトリエトキシシラン修飾セラミックス担体に固定化された CE が、最も高い反応性を有することが分かった。以上最適化された固定化 CE を用いて各種フタル酸エステル類の加水分解プロセスを構築した。

Enzymatic hydrolysis of various phthalates by immobilized cholesterol esterase

Katsuya Kato*, Takao Saito, Roxana Irimescu, Yoshiyuki Yokogawa

Ceramics Research Institute, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Japan

The hydrolytic enzyme capable of hydrolyzing novel synthesized compound, *p*-nitrophenyl 2-ethylhexyl phthalate (p-NPEHP) were screened from commercially available enzymes. From 36 enzymes, porcine pancreas lipase (PPL, Sigma) had high activity for p-NPEHP. Moreover, cholesterol esterase containing PPL, as an impurity, showed the best hydrolytic activity. Immobilization of CE was performed by adsorption on the surface-functionalized porous ceramics. This enzyme had adsorbed well on the surface modified by hydrophobic substituents like vinyl or phenyl. The stability of immobilized enzymes also was investigated. The immobilized enzyme could be recycled at least 5 times. This immobilized enzyme retained approximately 70% of the initial enzymatic activity after incubation at 45 °C for 1h, but the remaining activity of the free was only 10% after incubation at same temperature. These results suggest that surrounding the enzyme with a porous ceramic markedly increases the thermal stability of the enzyme. Under the optimized conditions, immobilized CE showed hydrolytic activity for various phthalates, especially, this had high activity for di-butyl and butyl benzyl phthalates.