

分子量および官能基を制御した新規キトサン系界面活性剤の機能化に関する研究
- 市販ペクチナーゼとその化学修飾酵素による N-アセチル化キトサンの
加水分解に及ぼす N-アセチル化度の影響 -

梶内俊夫

東京工業大学大学院理工学研究科

近年キトサン類は興味深い生理活性を多く持つことから注目を集めている。生理活性と重合度の関係から見ると、低分子化キトサンはキトサン高分子に匹敵する生理活性を持つことが明らかになっている。さらに、キトサンの低分子化によってその水溶性は向上し、溶液粘度は低下する。このため、キトサンの低分子化によってキトサン類を広範な分野で応用可能にすることが期待されている。

酵素的加水分解はキトサンの低分子化を行なう方法として期待されている。酵素的加水分解は化学的加水分解よりも通常穏和な条件で行なわれる。しかしながら、キトサンの酵素的加水分解は、キトサナーゼやキチナーゼなどの特異的酵素が高価であることから、工業的規模では利用されるに至っていない。

近年、数種類の加水分解酵素、例えばリゾチーム、セルラーゼ、パパイン、リパーゼ、ペクチナーゼなどがキトサン高分子中のグリコシド結合を加水分解することが明らかになってきた。これらの酵素は現在工業的に広く利用されており、安価に利用することができる。さらに、我々はポリエチレンオキシド-無水マレイン酸共重合体で化学修飾したペクチナーゼが高い熱安定性を有し、酵素とキトサンとの間の親和性が高いことを報告した。

本研究では、異なる N-アセチル化度 (DA) を持つ 3 種類の N-アセチル化キトサン (NAC) を用いて酵素的加水分解を行い、NAC の酵素的加水分解に及ぼす DA の影響を未修飾酵素及び修飾酵素を用いた場合について明らかにした。

【結果および考察】

未修飾ペクチナーゼおよび修飾ペクチナーゼを用いて異なる DA を持つ NAC の加水分解を行なった。実験結果から、どちらの酵素の場合も NAC の DA によって加水分解特性が影響を受けることが明らかになった。さらに、修飾酵素を用いた場合には未修飾酵素とは異なる加水分解特性を示した。

未修飾酵素を使用した場合、DA が 0.3 までの範囲では DA の増加とともに初期加水分解速度は増大し、DA が 0.3 以上の範囲では初期加水分解速度は変化しなかった。一方、修飾酵素を使用した場合、DA が 0.5 までの範囲で DA の増加と共に初期加水分解速度は増大した。また、修飾酵素の初期加水分解速度は未修飾酵素より若干低い値であった。

未修飾酵素および修飾酵素による NAC 加水分解における K_m 値はどちらの場合も DA の増加とともに減少した。すなわち、DA の増加と共に NAC と酵素の親和性が増大することがわかった。DA が 0.3 以上の範囲では修飾酵素は未修飾酵素より低い K_m 値を示した。これによって、ペクチナーゼの PEO-MA による化学修飾が酵素と NAC の親和性を向上させる働きがあることが明らかになった。