

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5006875号
(P5006875)

(45) 発行日 平成24年8月22日(2012.8.22)

(24) 登録日 平成24年6月1日(2012.6.1)

(51) Int.Cl. F 1
C O 8 F 6/10 (2006.01) C O 8 F 6/10

請求項の数 6 (全 11 頁)

(21) 出願番号	特願2008-517484 (P2008-517484)	(73) 特許権者	508020155
(86) (22) 出願日	平成18年6月20日 (2006.6.20)		ビーエーエスエフ ソシエタス・ヨーロピア
(65) 公表番号	特表2008-544054 (P2008-544054A)		ア
(43) 公表日	平成20年12月4日 (2008.12.4)		B A S F S E
(86) 国際出願番号	PCT/EP2006/063353		ドイツ連邦共和国 ルートヴィヒスハーフェン (番地なし)
(87) 国際公開番号	W02006/136554		D-67056 Ludwigshafen, Germany
(87) 国際公開日	平成18年12月28日 (2006.12.28)	(74) 代理人	100061815
審査請求日	平成21年3月11日 (2009.3.11)		弁理士 矢野 敏雄
(31) 優先権主張番号	102005029014.0	(74) 代理人	100099483
(32) 優先日	平成17年6月21日 (2005.6.21)		弁理士 久野 琢也
(33) 優先権主張国	ドイツ (DE)	(74) 代理人	100128679
			弁理士 星 公弘

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ポリマー中の残存ホルムアミドの酵素的分解

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

N-ビニルホルムアミドモノマーから重合によって製造される調製物 (Z) のホルムアミド含量を減少させる方法であって、酵素分類 E. C. 3. 5. 1. 5. の加水分解酵素を (Z) と接触させ、かつホルムアミド含量を 50 ppm未満に低下させることを特徴とする、ホルムアミド含量を減少させる方法。

【請求項 2】

(Z) 及び加水分解酵素を 3 ~ 10 の pH 値で接触させる、請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】

(Z) 及び加水分解酵素を 5 ~ 100 °C の温度で接触させる、請求項 1 記載の方法。

10

【請求項 4】

(Z) が水溶液として存在する、請求項 1 記載の方法。

【請求項 5】

(Z) が N-ビニルホルムアミドからなるホモポリマーである、請求項 1 記載の方法。

【請求項 6】

方法を連続的に実施する、請求項 1 記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、N-ビニルホルムアミドモノマーから構成されているポリマー調製物 (polym

20

eren Zubereitungen)中のホルムアミドを減少させる方法に関する。

【0002】

技術水準

ビニルホルムアミドのポリマー及びコポリマーの溶液は、それらの製造に基づいてホルムアミドを不純物として含有しうる。ホルムアミド濃度は、典型的には500～20000ppmの範囲内でありうる。多数の使用分野、例えば化粧品のためには、ホルムアミド含量を低下させることが望ましい。使用分野に応じて、500ppm未満から10ppm未満までの値に低下させることが望ましい。同時に、使用される方法がポリマー構造を変えないことが本質的であり、特に、アミノ基はポリマーのホルムアミド側鎖の加水分解により生成されるべきではない。

10

【0003】

ポリマー溶液のホルムアミド含量を、物理的な脱臭法、例えば蒸留、蒸気ストリッピング又はガストリッピングにより低下させる試みは、適していないことが分かっている。

【0004】

国際公開(WO)第00/09573号パンフレットには、ポリマーを酸又は塩基で処理することによりホルムアミドをギ酸塩及びアンモニアに加水分解することが記載されている。しかしながら、この手順は、満足すべき結果をもたらさない、それというのも、加水分解がごく僅かすぎるか、又はしかしポリマーのホルムアミド単位が同様に著しい割合までけん化されたからである。

20

【0005】

ホルムアミドを酸化的又は還元的に除去する試みは、同様に成功していなかった。同じように、多数の試薬で化学的に変換することが試みられた。

【0006】

これらの全ての場合に、ホルムアミドの転化が達成されないか、又はポリマーの望ましくない副反応、例えば分子量減少、架橋又は加水分解が起こった。

【0007】

ホルムアミドを加水分解することができる多様な酵素が知られている：タチナタマメ(Riesenbohnen)由来のウレアーゼ("Jack bean urease") [EC 3.5.1.5]は、高活性で尿素の加水分解を、かつ明らかにより低い活性でホルムアミドの加水分解を触媒してギ酸及びアンモニアに変換する(Dixon他, Can. J. Biochem. 1980, 58 1335-1344; Fishbein, Biochim. Biophys. Acta 1977, 484, 433-442; Blakeley及びZerner, J. Mol. Cat. 1984, 23, 263-292)。

30

【0008】

Greenwood他(FEMS Microbiol. Lett. 1998, 160, 131-135)には、ホルムアミドを水溶液中で加水分解することができるメチロフィルス メチロトロフス(Methylophilus methylotrophus)由来のウレアーゼ[EC 3.5.1.5]が記載されている。

【0009】

Clarke (Adv. Microbial Physiol. 1970, 4, 179-222)は、シュードモナス エルジノーサ(Pseudomonas aeruginosa)由来の脂肪族アミダーゼの基質特異性を調査した。その際に活性試験において多様な脂肪族アミド、例えばホルムアミド、アセトアミドが調査された。

40

【0010】

Wyborn他(Eur. J. Biochem. 1996, 240, 314-322; Microbiology 1994, 140, 191-195)は、メチロフィルス メチロトロフス(Methylophilus methylotrophus)由来のホルムアミダーゼを調査した。この酵素の精製及び異種発現の際に、ホルムアミドの加水分解のための活性試験が実施された。

【0011】

Cornelius他(J. General Microbiol., 1981, 125, 367-374)は、アルカリゲネス ユートロファス(Alcaligenes eutrophus)由来の2つのアミダーゼを記載している。ホルムアミド及びその他の脂肪族アミドに関する基質特異性が活性試験において調査された。

50

【0012】

課題設定

本発明の課題は、水性ポリマー調製物中のホルムアミド含量を、ポリマー構造がその際に攻撃されないような温和な条件下で低下させることであった。

【0013】

発明の詳細な説明

本発明は、N-ビニルホルムアミドモノマーから重合によって製造される調製物（Z）のホルムアミド含量を、酵素分類E. C. 3. 5. の加水分解酵素を（Z）と接触させることによって減少させる方法に関する。

【0014】

本発明による方法に適しているのは、非ペプチド性炭素-窒素結合に作用する加水分解酵素である（E. C. 分類3. 5. x. x. ）。

【0015】

これらの中では、線状アミドと反応する加水分解酵素 [E C 3. 5. 1. x] の部類が好ましく、かつウレアーゼ [E. C. 3. 5. 1. 5.] 及びホルムアミダーゼ [E C 3. 5. 1. 49] の部類が極めて特に好ましい。

【0016】

ウレアーゼの中では、タチナタマメ（英語jack beans）由来のウレアーゼ並びにラクトバシラス(Lactobacillus)、特にラクトバシラス フェルメンタム(Lactobacillus fermentum) ("酸性ウレアーゼ") 由来のウレアーゼ並びにバシラス(Bacillus)、特にバシラス パステウリイ(Bacillus pasteurii)由来のウレアーゼが特に好適である。

【0017】

特に好適なホルムアミダーゼは、冒頭にWyborn他により記載されたメチロフィルス メチロトロフス(Methylophilus methylotrophus)由来のホルムアミダーゼである。

【0018】

酵素は、精製されて多様な純度レベルで本発明による方法において使用されることができ、又は相対的に精製されていない抽出物として、例えば豆粉(Bohnenmehl) (jack bean meal; 商業的に入手可能) として、使用されることもできる。好ましくは、前記酵素は固体として使用される。

【0019】

前記酵素は、純粋な形で又は複数の異なる酵素の混合物 ("カクテル(cocktail)") として使用されることができる。

【0020】

前記方法の実施に応じて、酵素は、溶解された形で（Z）と接触されることができ、又は酵素は、常用の担体に施与され、かつ固定化された形で（Z）と接触される。

【0021】

本発明による方法において使用される加水分解酵素の量は、酵素調製物の純度に依存する。本発明による方法のための典型的な酵素量は、ポリマー固体1gあたり、10～10000単位、好ましくは100～1000単位である。1単位とは、尿素1 μmolを毎分pH=7. 5及び25℃で加水分解する酵素量と呼ぶ。これらの酵素量は、およそその基準値に過ぎず、これらから、特に反応条件、例えば温度及び恒温保持時間が変わる場合に、下方及び上方へ逸脱してもよい。本発明による特定の反応のために最適な量の加水分解酵素は、決まり切った系列試験により容易に算出されることができる。

【0022】

本発明による方法は、N-ビニルホルムアミドを重合導入されて含有する全てのポリマーに使用可能である。その場合に、N-ビニルホルムアミドのホモポリマー並びにコポリマー並びにこれらのグラフトコポリマーが考慮に値する。N-ビニルホルムアミドのための可能なコモノマーとして、例えば他のN-ビニルカルボン酸アミド、例えばN-ビニル-N-メチルホルムアミド、N-ビニルアセトアミド、N-ビニル-N-メチルアセトアミド、N-ビニル-N-エチルホルムアミド、N-ビニル-N-n-プロピルホルムアミ

10

20

30

40

50

ド、N-ビニル-N-イソプロピルホルムアミド、N-ビニル-N-イソブチルホルムアミド、N-ビニル-N-メチルプロピオンアミド、N-ビニル-N-ブチルアセトアミド及びN-ビニル-N-メチルプロピオンアミドが適している。

【0023】

N-ビニルホルムアミドのためのモノマーとして、さらに、炭素原子3～8個を有するモノエチレン系不飽和カルボン酸並びにこれらのモノマーの水溶性塩が考慮に値する。この群には、例えば、アクリル酸、メタクリル酸、ジメチルアクリル酸、エタクリル酸、マレイン酸、シトラコン酸、メチレンマロン酸、アリル酢酸、ビニル酢酸、クロトン酸、フマル酸、メサコン酸及びイタコン酸が含まれる。モノマーのこの群からは、好ましくは、アクリル酸、メタクリル酸、マレイン酸又はまた前記のカルボン酸の混合物、特にアクリル酸及びメタクリル酸からなる混合物が使用される。不飽和カルボン酸は、遊離形でなく、部分的に又は完全に塩基で、例えばカセイソーダ液、カセイカリ液、水酸化カルシウム又はアンモニアで中和された形でも、重合されることができる。

10

【0024】

適した別のモノマーは、例えば、挙げられたカルボン酸のエステル、アミド及びニトリルである。アクリル酸エステル及びメタクリル酸エステルは、好ましくは、炭素原子1～4個を有する飽和の一価アルコールもしくは炭素原子2～4個を有する飽和の二価アルコールから誘導される。

【0025】

これらのエステルの例は、アクリル酸メチルエステル、メタクリル酸メチルエステル、アクリル酸エチルエステル、メタクリル酸エチルエステル、アクリル酸-n-プロピルエステル、メタクリル酸-n-プロピルエステル、アクリル酸イソプロピルエステル、メタクリル酸イソプロピルエステル及び異性体ブタノール類から誘導されるアクリル酸及びメタクリル酸のエステル、並びにヒドロキシエチルアクリラート、ヒドロキシエチルメタクリラート、ヒドロキシプロピルアクリラート、ヒドロキシプロピルメタクリラート、ヒドロキシブチルアクリラート、ヒドロキシイソブチルアクリラート及びヒドロキシイソブチルメタクリラートである。

20

【0026】

また、アクリルアミド、メタクリルアミド、N, N-ジメチルアクリルアミド、N-tert-ブチルアクリルアミド、アクリロニトリル、メタクリロニトリル、ジメチルアミノエチルアクリラート、ジメチルアミノエチルメタクリラート、ジエチルアミノエチルアクリラート、ジエチルアミノエチルメタクリラート並びにカルボン酸又は鉱酸との最後に挙げたモノマー類の塩並びに四級化生成物も挙げることができる。

30

【0027】

さらに、N-ビニルホルムアミドの共重合用のモノマーとして、ビニルエステル、例えばギ酸ビニル、酢酸ビニル及びプロピオン酸ビニルが使用されることができる。さらに、N-ビニルピロリドン、N-ビニルカプロラクタム、1-ビニルイミダゾール、2-メチル-1-ビニルイミダゾール及び4-メチル-1-ビニルイミダゾール、ビニルスルホン酸、アリルスルホン酸、メタリルスルホン酸、スチレンスルホン酸、ビニルホスホン酸、アリルホスホン酸及びジアリルジメチルアンモニウムクロリドが適している。前記のモノマーの混合物を使用することももちろん可能である。

40

【0028】

前記のモノマーは、N-ビニルホルムアミドを含有するコポリマー中に、例えば1～99mol%が重合導入された形で存在してよい。

【0029】

さらにまた、N-ビニルホルムアミドのホモポリマー及びコポリマーは、重合が、分子中に少なくとも2つのエチレン系不飽和非共役二重結合を有する化合物の存在で行われるようにして変性されていてよい。重合の際にこれらのモノマーの併用は、ポリマーの分子量の増大を生じさせる。

【0030】

50

特に適しているのは、例えばアルキレンビスアクリルアミド、例えばメチレンビスアクリルアミド及びN, N'-アクリロイルエチレンジアミン、N, N'-ジビニルエチレン尿素、N, N'-ジビニルプロピレン尿素、エチリデンビス-3-(N-ビニルピロリドン)、N, N'-ジビニルジイミダゾリル-(2, 2')-ブタン及び1, 1'-ビス(3, 3'-ビニルベンゾイミダゾリル-2-オン)-1, 4-ブタンである。適した他の架橋剤は、例えばアルキレングリコールジ(メタ)アクリラート、例えばエチレングリコールジアクリラート、エチレングリコールジメタクリラート、テトラエチレングリコールジアクリラート、テトラエチレングリコールジメタクリラート、ジエチレングリコールアクリラート、ジエチレングリコールメタクリラート、芳香族ジビニル化合物、例えばジビニルベンゼン及びジビニルトルエン並びにビニルアクリラート、アリルアクリラート、アリルメタクリラート、ジビニルジオキサン、ペンタエリトリートトリアリルエーテル並びにこれらの架橋剤の混合物である。前記架橋剤は、重合の際に使用されるモノマーを基準として、0.1~10質量%、好ましくは1~4質量%の量で使用される。

【0031】

変性の別の可能性は、他のポリマーへのN-ビニルホルムアミドのグラフトにより提供される。そのようなグラフトポリマーの製造のためには、N-ビニルホルムアミドは、場合により前記の他のコモノマーと共に、グラフトベースの存在で前記の方法で重合される。

【0032】

米国特許(US-A)第5334287号明細書には、例えば、糖類をベースとする天然物上へのN-ビニルホルムアミドのグラフトが記載されている。グラフトベースとして、その場合には、単糖類及びオリゴ糖類、例えばグルコース、フルクトース、ガラクトース、リボース、マンノース、サッカロース、ラクトース及びラフィノース又は多糖類、例えばペクチン、アルギン、キチン、キトサン、ヘパリン、寒天、アラビアゴム、ローカストビーンガム、グァーガム、キサントラン、デキストラン等並びにペントサン、例えばキシラン及びアラバンが適している。コーンスターチ、ジャガイモデンプン、小麦デンプン、米デンプン、タピオカデンプン、サゴデンプン、モロコシデンプン(Sorghunstaerke)、キャッサバデンプン、エンドウ豆デンプン又は少なくとも80質量%のアミロペクチン含量を有するそのようなデンプン、例えばろう質コーンスターチ又はろう質ジャガイモデンプン、酵素的又は加水分解的に分解されたデンプン、例えば白色デキストリン及び黄色デキストリン並びにマルトデキストリン、又はまた酸化されたデンプン、例えばジアルデヒドデンプンの群からの天然デンプンも考慮に値する。

【0033】

最後に、この系列において、さらに化学的に変性された糖類、例えばカルボキシメチルセルロースを挙げることができる。

【0034】

グラフトベースとして、さらに、アルキレンオキシド単位を有するポリマー、特に、C₂~C₄-アルキレンオキシドのホモポリマー及びコポリマーが適しており、これらは、エチレンオキシド、プロピレンオキシド、n-ブチレンオキシド、イソブチレンオキシド又はテトラヒドロフランの重合により入手可能である。そのようなポリアルキレンオキシドは、独国特許出願公開(DE-A)第19515943号明細書に記載されている。これらのポリマーは、主に長鎖のアルコール、フェノール類、カルボン酸及びアミンへのC₂~C₄-アルキレンオキシドの付加生成物であってもよい。独国特許出願公開(DE-A)第19526626号明細書からは、飽和C₁~C₄-カルボン酸のビニルエステルの単位、例えばギ酸ビニル、酢酸ビニル、プロピオン酸ビニル及びビニル-n-ブチラート及び/又はビニルアルコール単位を有するポリマー上への相応するグラフトポリマーが知られている。

【0035】

N-ビニルホルムアミド単位を含有するポリマーの製造は、重合条件下にラジカルを形成する化合物を使用して、溶液重合、沈殿重合、懸濁重合又は乳化重合の公知の方法により行われる。重合温度は、通常、例えば30~200℃、好ましくは40~110℃の範

10

20

30

40

50

圈内である。適した開始剤は、例えばアゾ化合物及びペルオキシ化合物並びに常用のレッドックス開始剤系、例えば過酸化水素及びヒドラジンからなる組合せである。これらの系は、場合によりさらに付加的になお少量の重金属塩を含有してよい。重合開始剤として、好ましくは水溶性のアゾ化合物、例えば2, 2'-アゾビス(2-メチルプロピオンアミジン)二塩酸塩、2, 2'-アゾビス(4-メトキシ-2, 4-ジメチルバレロニトリル)及び2, 2'-アゾビス(2-メチル-N-フェニルプロピオンアミジン)二塩酸塩が使用される。低いK値を有するポリマーを製造するためには、重合は好都合には、調節剤、例えばメルカプト化合物、アリル化合物、アルデヒド又はヒドラジンの存在で実施される。

【0036】

こうして得ることができるポリマーは、10～300、好ましくは30～250のK値を有する。K値は、H.Fikentscher、Cellulose-Chemie、第13巻、58～64及び71～74 (1932)に従い、5%食塩水溶液中、pH値7、25℃の温度及び0.1質量%のポリマー濃度で決定される。

【0037】

こうして製造されるポリマーの場合に、ホルムアミドの濃度は10～100, 000 ppmの範囲内である。典型的な値は5000～10000 ppmである。本発明による方法は目下、このホルムアミド含量の明らかな減少を可能にする。

【0038】

加水分解酵素が(Z)と接触される反応温度は、約5℃から100℃までの幅広い範囲内で選択されることができる。好ましくは、使用される加水分解酵素が高い触媒活性を有するそのような温度が選択され、これは、通常10～40℃、好ましくは20～35℃である場合である。好熱微生物又は特別に耐熱性に選択された酵素由来の加水分解酵素が使用される場合には、反応温度はしかした明らかなに上回っていてもよい。

【0039】

本発明による方法のためのpH範囲は、通常3～10、好ましくは4～8である。最適範囲は、使用される加水分解酵素のpH-安定性に依存する。

【0040】

反応時間は、選択される酵素量、温度及び(Z)中のポリマーの濃度に、並びに所望の"残存ホルムアミド含量"にも著しく依存する。反応時間は、通常、数時間から数日まで、好ましくは5～24時間の範囲内である。

【0041】

本発明による方法において、ポリマー調製物は、通常、水性分散剤又は溶剤、好ましくは緩衝された溶剤中に存在する。(Z)は、分散されるか又は好ましくは分子溶解されて存在してよい。調製物(Z)中のポリマーの量は、ポリマー約1から99質量%まで、好ましくは5～50質量%、特に好ましくは10～30質量%の幅広い範囲内で調節されることができる。

【0042】

本発明による方法は、不連続に又は連続的に実施されることができる。不連続な(いわゆるバッチ)操作方式の場合に、酵素は、重合直後に又はポリマーの単離及び場合により精製後にも、添加されることができる。加水分解酵素によるホルムアミドの分解が行われた後に、使用目的に応じて、酵素は、反応媒体から分離されることができる。しかした、酵素は、反応媒体中で放置されてよく、かつ所望の場合にのみ、例えば加熱によるか又は媒体の酸性化により、失活されてよい。

【0043】

連続的な方法操作の場合に、本発明の好ましい実施態様において、担持された酵素が使用され、この酵素がポリマー調製物(Z)と接触される。例えば、担持された加水分解酵素は、カラム中へパッキングされていてよく、このカラムへ(Z)が所望の反応条件でポンプ輸送される。特別な使用のためには、ホルムアミドの特に効率的な減少を達成するために、酵素反応器のカスケードが直列接続されることもできる。

10

20

30

40

50

【0044】

本発明による方法を用いて、N-ビニルホルムアミドから重合により製造されたポリマー調製物中のホルムアミド含量を劇的に低下させ、ひいては50ppm未満、好ましくは20ppm未満、特に10ppm未満の残存ホルムアミド含量を達成することができる。

【0045】

実験の部

酵素力"単位(Units)"は、他に記載されていない場合には、アンモニアへの尿素の加水分解に基づいている。

水溶液中のホルムアミド含量を、HPLCを用いて定量分析した。

【0046】

10

例1:

タチナタマメ粉の抽出物を用いる残存ホルムアミドの分解

タチナタマメの粉("Jack bean meal", Sigma社)を水で抽出し、遠心分離により清澄にし、限外ろ過を用いて濃縮した。1101U/mlを有するウレアーゼ含有抽出物が得られた。

【0047】

多様な量のこのウレアーゼ抽出物を、水中のポリ(ビニルホルムアミド)16質量%溶液に添加し(バッチの全質量50g)、40℃及びpH7.0で攪拌した。酵素を、反応を停止させるために、酸性化により変性させた。

【0048】

20

【表1】

酵素量[kU]	反応時間	ホルムアミドの残存含量[ppm]
なし	0h	1600
なし	24h	1700
5	6h	990
5	24h	420
10	6h	600
10	24h	80
15	6h	320
15	24h	40

30

【0049】

例2:

タチナタマメ粉の凍結乾燥物を用いる残存ホルムアミドの分解

例1に記載された抽出物を凍結乾燥させた。17926U/gの活性を有するウレアーゼ含有粉末が得られた。

40

【0050】

多様な量のこのウレアーゼ粉末を、水中のポリ(ビニルホルムアミド)の16質量%溶液50gに添加し、40℃及びpH7.0で攪拌した。酵素を、反応を停止させるために、酸性化により変性させた。

【0051】

【表 2】

酵素量[kU]	反応時間	ホルムアミドの残存含量[ppm]
なし	24h	1700
1.25	24h	790
2.5	24h	390
5	24h	100
10	24h	10
15	6h	230
15	24h	<10

10

【0052】

例 3：

大豆粉の抽出物を用いる残存ホルムアミドの分解

大豆の粉 (Sigma社) を水で抽出し、遠心分離により清澄にし、限外ろ過を用いて濃縮した。292U/mlを有するウレアーゼ含有抽出物が得られた。

20

【0053】

多様な量のこのウレアーゼ抽出物を、水中のポリ (ビニルホルムアミド) の16質量%溶液に添加し (バッチの全質量50g)、40℃及びpH 7.0で攪拌した。酵素を、反応を停止させるために、酸性化により変性させた。

【0054】

【表 3】

酵素量[kU]	反応時間	ホルムアミドの残存含量[ppm]
なし	24h	1700
5	6h	1220
5	24h	610
7.3	6h	1150

30

【0055】

例 4：

市販のウレアーゼを用いる残存ホルムアミドの分解

ナタマメ (Schwertbohn) 由来の精製ウレアーゼは、Fluka社 (注文番号94282) から商業的に入手可能である。尿素の加水分解に関する活性は、タンパク質1mgあたり約35単位である。

40

【0056】

多様な量のこのウレアーゼ抽出物を、水中のポリ (ビニルホルムアミド) の16質量%溶液に添加し (バッチの全質量50g)、40℃及びpH 7.0で攪拌した。酵素を、反応を停止させるために、酸性化により変性させた。

【0057】

【表 4】

酵素量	ホルムアミドの残存含量[ppm]
なし	1500
28.5 mg (1 kU)	570
57 mg (2kU)	170
114 mg (4kU)	14
171 mg (6kU)	<10
229 mg (8 kU)	<10

10

【0058】

例 5：

市販のウレアーゼを用いる、例 4 とは異なる温度及び時間並びにより高いポリマー濃度での残存ホルムアミドの分解

ナタメ由来の精製ウレアーゼは、Fluka社（注文番号94282）から商業的に入手可能である。尿素の加水分解に関する活性は、タンパク質 1 mgあたり約 35 単位である。

【0059】

20

多様な量のこのウレアーゼ抽出物を、水中のポリ（ビニルホルムアミド）の 32 質量％溶液に添加し（バッチの全質量 150 g）、40℃及び pH 7.0 で攪拌した。酵素を、反応を停止させるために、酸性化により変性させた。

【0060】

【表 5】

酵素量	8 h 後のホルムアミドの残存含量 [ppm]	24 h 後のホルムアミドの残存含 量[ppm]	72 h 後のホルムアミドの残存含 量[ppm]
0	—	3400	—
7.5 kU	—	—	220
15 KU	1170	270	70
30 kU	610	25	20
60 kU	140	40	—

30

40

【0061】

例 6：

バシラス パステウリイ(Bacillus pasteurii)由来の市販のウレアーゼを用いる残存ホルムアミドの分解

バシラス パステウリイ(Bacillus pasteurii)由来の精製ウレアーゼは、Sigma社（注文番号U7127）から商業的に入手可能である。尿素の加水分解に関する活性は、タンパク質 1 mgあたり約 197 単位である。

【0062】

多様な量のこのウレアーゼ抽出物を、水中のポリ（ビニルホルムアミド）の 16 質量％溶液に添加し（バッチの全質量 20 g）、40℃及び pH 7.5 で攪拌した。酵素を、反

50

応を停止させるために、酸性化により変性させた。

【0063】

【表6】

酵素量	ホルムアミドの 残存含量[ppm]
なし	1200
10 kU	400
20 kU	120

フロントページの続き

- (74)代理人 100135633
弁理士 二宮 浩康
- (74)代理人 100114890
弁理士 アインゼル・フェリックス＝ラインハルト
- (72)発明者 ディートマー ヘーリング
ドイツ連邦共和国 ノイーエディンゲン リリーエンシュトラッセ 5 5
- (72)発明者 マクシミリアン アンゲル
ドイツ連邦共和国 シファーシュタット バイエレンシュトラッセ 1 2
- (72)発明者 ハンス＝ヨアヒム ヘーンレ
ドイツ連邦共和国 ノイシュタット ベールエッカーシュトラッセ 2 7
- (72)発明者 トーマス フリードリッヒ
ドイツ連邦共和国 ダルムシュタット ザールバウシュトラッセ 2 2－2 4
- (72)発明者 ベルンハルト ハウアー
ドイツ連邦共和国 フースゲーンハイム メロヴィンガーシュトラッセ 1
- (72)発明者 フォルカー ブライク
ドイツ連邦共和国 ヴァインハイム＝リュッツェルザクセン イン デア シュタイク 4
- (72)発明者 リザンダー クリスシュトッフエルス
ドイツ連邦共和国 リンブルガーホーフ ヒェノーファー シュトラッセ 2
- (72)発明者 マルティン リューベンアッカー
ドイツ連邦共和国 アルトリップ エミール＝ノルデーヴェーク 3 5

審査官 中島 芳人

- (56)参考文献 特開平03－252406 (JP, A)
特開昭63－198990 (JP, A)
特開平01－294706 (JP, A)
特開2005－065514 (JP, A)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
C08F 6/