

# 木質建材を介した室内アセトアルデヒド生成に関する研究 - 酵素反応の検証と対策処理法の提案 -

2008年3月 環境システム学専攻 66750 黒崎陽介

指導教員：柳沢幸雄教授

キーワード：アセトアルデヒド，アルコールデヒドロゲナーゼ，室内空気，シックハウス

## 1. 室内アセトアルデヒド問題について

### 1.1. アセトアルデヒドの有害性と室内濃度について

アセトアルデヒドはシックハウス症候群の原因物質の一つであり、発がん性も疑われていることから、室内濃度が高ければ健康への悪影響が懸念される物質である。しかし、最新調査では、約9割の新築木造家屋で厚生労働省制定の室内濃度指針値(48  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ , 0.03ppm)を超過しているとの報告がある<sup>(1)</sup>。一方、室内アセトアルデヒドの主要発生源は解明されておらず、対策のための情報が不足しており、この数年間室内濃度に減少の傾向はない。

アセトアルデヒドの室内発生源としては木質建材・接着剤等の建築材料や、燃焼系機器、飲酒・喫煙等の生活活動等が指摘されている。しかし、アセトアルデヒドは新築未入居の家屋でも高濃度で検出されているため<sup>(1)</sup>、生活活動以外からも発生していると推察される。

### 1.2. エタノールと木材の接触による生成反応

本研究では、建材用接着剤や塗料用の溶剤であるエタノールと、一部の木材との接触によりアセトアルデヒドが酸化的に生成するという現象<sup>(2)</sup>に注目する(図1)。自然木材からのアセトアルデヒド放散量は5~130  $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{hour}$ であるが、エタノールを含む樹脂接着剤を使用した集成材からの放散量は600~1500  $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{hour}$ であるという報告例がある<sup>(3)</sup>。よって、この酸化反応が室内における主要発生要因である可能性が指摘されるが、その反応メカニズムは不明である。以上より、酸化的にアセトアルデヒドを生成する木材中の因子を解明し、具体的な対策を考案する事を本研究の目的とする。

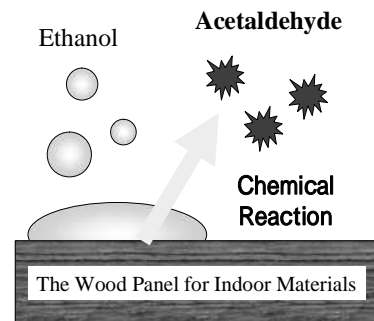


図1 木質建材を介したアセトアルデヒド生成反応

## 2. エタノールと木質建材の接触によるアセトアルデヒド生成因子の特定

### 2.1. 木材を介したアセトアルデヒド生成反応の樹種依存性確認実験

木材を介して、エタノールからアセトアルデヒドを酸化的に生成する因子を解明するため、本反応が特定の樹種に特徴的であるかどうかを実験的に確認して、酸化反応因子を探索する対象となる樹種を絞り込む事を試みた。

本実験では、3種類ずつの針葉樹・広葉樹の建材サンプルを粉碎し、これらの木粉500mgにエタノール100  $\mu\text{mol}$ を滴下して、35℃の定温条件で24時間静置し、酸化反応により木粉から放散されるアセトアルデヒドをDNPHサンプラーに捕集した(図2)。捕集したアセトアルデヒドは、アセトニトリルで溶媒抽出してから高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で定量して、捕集量を求めた。同様の実験を、エタノールを滴下しない木粉に対しても行い、エタノール滴下の有無による捕集量の違いを比較し、アセトアルデヒドが酸化的に生成されているかを確認した。実験の結果を表1に示した。

針葉樹では3つ全ての樹種で、エタノールを滴下条件でのアセトアルデヒド捕集量が、滴下のない条件と比較して2桁程度増加していたが、広葉樹では針葉樹ほどの捕集量は確認されなかった。これより、木材を介したエタノールからのアセトアルデヒド生成反応は、スギをはじめとした針葉樹類で顕著に進行することが判明した。

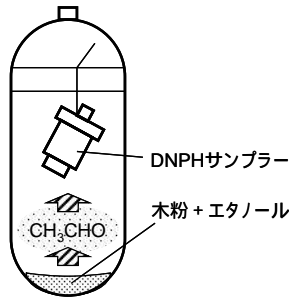


図2 実験方法略図

表1 各木粉からのアセトアルデヒド捕集量  
(単位μg, n=3)

	樹種名	エタノール添加	
		あり	なし
針葉樹	スギ	89.4 ± 18.3	0.162 ± 0.009
	ヒノキ	14.9 ± 1.7	0.226 ± 0.012
	レッドパイン	5.76 ± 0.12	0.0811 ± 0.0038
広葉樹	ナラ	0.297 ± 0.025	<0.0750
	タモ	0.286 ± 0.006	0.0763 ± 0.0193
	キリ	0.183 ± 0.010	<0.0750

## 2.2. スギ材の各種アルコールとの反応性確認実験

木材を介してエタノールを酸化する因子を特定するには、本反応の特徴について調べる必要があると考えられる。本実験では、エタノールからアセトアルデヒドを生成する代表的な樹種であるスギ材の木粉にメタノール、1-プロパノール、2-プロパノールを 100 μmol 滴下して、酸化による生成が予想されるカルボニル化合物（順にホルムアルデヒド、プロピオンアルデヒド、アセトン）を、樹種依存性実験と同様の方法で捕集・定量し、エタノールの場合と同様の酸化反応が起きるかを酸化生成物のモル量で比較して確認した。実験結果は表2に示した。結果より、酸化反応はエタノール、1-プロパノールの順に顕著であり、メタノールと2-プロパノールではほとんど反応が進行しない事が判明した。

表2 スギ木粉に各アルコールを添加して捕集されるカルボニル量（単位μg, n=3）

		添加したアルコール				
		なし	メタノール	エタノール	1-プロパノール	2-プロパノール
予想される酸化生成物			ホルムアルデヒド	アセトアルデヒド	プロピオンアルデヒド	アセトン
捕集物質	ホルムアルデヒド	<0.0750	0.103 ± 0.029	0.0861 ± 0.0054	0.200 ± 0.097	0.274 ± 0.152
	アセトアルデヒド	0.162 ± 0.009	0.121 ± 0.006	89.4 ± 18.3	0.128 ± 0.021	0.113 ± 0.004
	プロピオンアルデヒド	<0.0750	<0.0750	<0.0750	58.8 ± 6.3	<0.0750
	アセトン	0.404 ± 0.278	0.542 ± 0.159	0.249 ± 0.009	0.359 ± 0.049	0.710 ± 0.053
酸化生成物の捕集モル量(μmol)			0.00343 ± 0.00010	2.03 ± 0.41	1.01 ± 0.11	0.0121 ± 0.0009

## 2.3. アセトアルデヒド生成反応へのアルコールデヒドロゲナーゼ(ADH)の関与の検討

2.2.の各種アルコール添加実験で観察された反応性は、酵素成分であるアルコールデヒドロゲナーゼ(ADH)の触媒活性と類似しており<sup>(4)</sup>、本酸化反応を進行させる因子としてADHの関与が示唆された。ADHは補酵素のニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NAD)の共存下で、式(1)のアルコール酸化反応の進行を加速させる性質を持つ。



植物由来ADHの触媒活性は直鎖で分子量が小さいアルコールに対して大きい、その活性はエタノールで最大となり、メタノールの反応にはほとんど寄与しないという特徴がある。図3に、高等植物由来ADHのエタノールに対する触媒活性を100としたメタノール、1-プロパノール、2-プロパノールに対する相対触媒活性値を、各種アルコール添加実験の結果と併記した。これより、実験結果と植物由来ADHの活性が似た傾向を示している事が見て取れ、本結果はスギ材を介したエタノールからのアセトアルデヒド生成にADHが関与しているという仮説を支持している。また、ADHはスギ材中において、針葉樹特有成分のノルリグナンを生成するために存在する事が確認されているが<sup>(5)</sup>、この事実も2.1.の樹種依存性確認実験の結果と合致している。実際の反応にADHが関与しているかどうかについては、次章で実験的に検証した。

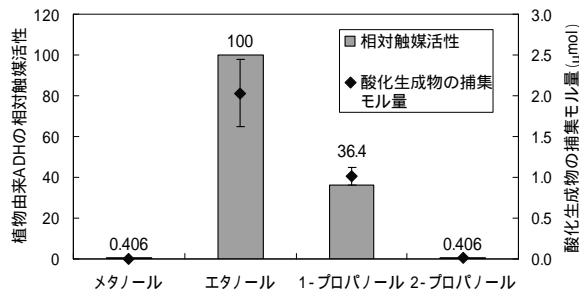


図3 アルコール添加実験結果とADHの相対触媒活性値(数字は触媒活性値)



E: 酵素 (ADH), S: 基質 (エタノール)  
 ES: 酵素 - 基質複合体,  
 P: 反応生成物 (アセトアルデヒド)  
 I: 阻害剤 (ピラゾール),  $K_i$ : 解離定数

図4 ピラゾールのADH阻害機構

### 3. 酵素阻害剤を用いたADHの関与の検証実験

#### 3.1. 実験の目的と原理

特定の酵素の触媒活性を特異的に低下させる物質を阻害剤という。本実験では、木材を介したアセトアルデヒド生成にADHが関与している事を証明するため、ADHの阻害剤をエタノールとスギ材の反応場に添加する実験を行った。本反応にADHが関与していれば、阻害剤が添加された条件下では、アセトアルデヒド生成量が減少する事が予想された。

#### 3.2. ピラゾールとホウ素によるアセトアルデヒド生成反応阻害実験

ピラゾールはADHの阻害剤であり、図4のようにADHの活性部位に結合してエタノール酸化反応を阻害する。ピラゾールの1M阻害剤水溶液または純水にスギ木粉50mgを浸してからエタノール10μmolを滴下し、アセトアルデヒドの捕集量を比較したところ、阻害剤水溶液条件ではアセトアルデヒドの捕集量が大幅に減少した(図5)。

また、ピラゾールと異なるメカニズムでADHを阻害するホウ素の水溶液をホウ酸ナトリウムを用いて調製し(0.010~0.10M)、ピラゾールと同様の実験を行った<sup>(6)</sup>。結果から、水溶液中のホウ素濃度の上昇に伴いアセトアルデヒド捕集量が減少する事を確認した(図6)。

以上より、阻害メカニズムの異なる2つの阻害剤で反応の阻害が確認され、本反応にADHが関与しているとする仮説を支持する重要な実験的証拠が得られた。

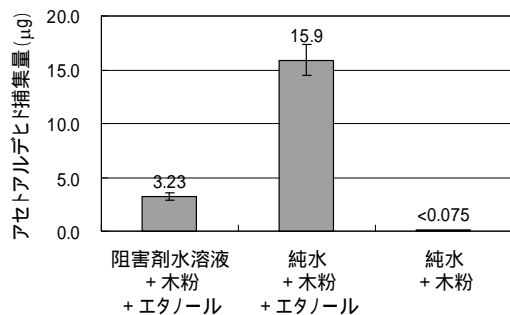


図5 ピラゾールによる阻害実験結果

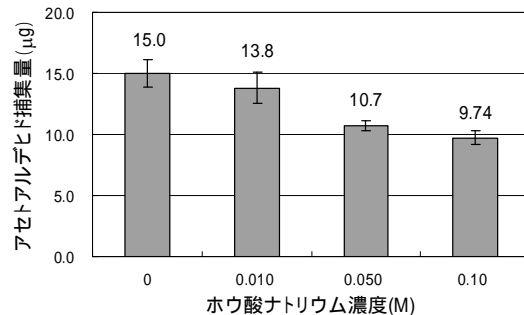


図6 ホウ素による阻害実験結果

### 4. ADHの熱変性・化学変性処理によるアセトアルデヒド生成対策の提案

#### 4.1. ADHの熱変性処理に関する基礎的実験

ADHをはじめとする酵素は、適切な処理によって変性させればその触媒能が失われる(失活する)事から、変性処理によってアセトアルデヒドの生成を抑止できる可能性がある。本実験では、加熱処理による木材中ADHの熱変性がアセトアルデヒド生成対策として有効であるか確認するため、スギ木粉を60~150の温度範囲で24時間加熱し、恒温条件下で木粉中の含水率を一定としてからエタノール10μmolを滴下して、35の定温で6時間静置して生成されるアセトアルデヒドを捕集・定量した。加熱温度が高いほどADHがより熱

変性して失活し、アセトアルデヒド生成反応が抑制される事が確認された(表3)。しかし、本実験では、加熱直後の木粉の含水率が1%程度にまで低下したが、含水率を保ったまま加熱しなければ、実際の建材用木材では水分量変化による変形・割れを起こす可能性が考えられるため、実用的には加湿条件で加熱処理を行う必要があると考えられた。

表3 加熱処理後の木粉からのアセトアルデヒド生成と加熱直後の含水率 (n=3)

加熱処理温度( )	処理なし	60	80	100	120	150
アセトアルデヒド 捕集量(μg)	2.64 ± 1.4	1.98 ± 0.27	0.975 ± 0.167	0.244 ± 0.093	<0.075	N.D.
加熱直後の含水率(%)		1.0	0.4	0.0	0.0	1.1

4.2. 実用的な処理方法の検討：水蒸気による熱変性実験と尿素水溶液による化学変性実験  
木材の含水率は接触している空気中の相対湿度に応じて平衡値に達する事から、高温水蒸気を用いる事で含水率低下を防ぎながら木材を加熱する事が可能であると予想される。本実験では、オートクレーブ装置を用いて高温水蒸気(120 )による加熱処理を3時間スギ木粉に施した後、前述の基礎的実験と同条件でアセトアルデヒド生成実験を行った。

また、タンパク質変性剤としての機能を有する尿素の水溶液が、ADHの変性処理剤として有効性を示すかどうか検証するため、1M尿素水溶液を変性剤溶液として調製し、スギ木粉に添加した。続いて木粉の含水率を一定とし、アセトアルデヒド生成実験を行った。

これらの実験結果を表4に示す。高温水蒸気と尿素処理の両方でアセトアルデヒドの捕集量が大幅に減少し、これらの方法がアセトアルデヒド生成対策として有効性を示す事が確認された。高温水蒸気による処理は、材質低下を防ぐため、温湿度の調節についてさらに検討する必要があると考えられる。尿素水溶液は常温での処理が可能であり、高温処理によるリスクを避ける事が出来るので、実用において高い有効性を示す事が期待される。

表4 各変性処理を施した木粉へのエタノール添加実験結果 (n=3)

変性方法	熱変性	化学変性	標準試料
処理方法	120 水蒸気	1M尿素水溶液	
含水率(%)	19		13
アセトアルデヒド捕集量(μg)	N.D.	<0.075	2.64 ± 0.14

## 5. 結論

本研究では、室内アセトアルデヒドの有害性と問題の現状について述べ、主要発生源として、建材用接着剤や塗料中のエタノールと木材の接触による酸化反応を指摘した。

この反応に関して、数種類の樹種やアルコール類の接触実験を行い、実験結果から酵素ADHの関与を提起した。この仮説を証明するため、酵素阻害剤を反応場に添加して本反応への阻害効果を確認し、仮説を支持する実験的証拠を得た。

続いて、熱変性や変性剤による処理をアセトアルデヒド生成削減対策として提案し、高温水蒸気による加熱や尿素水溶液による処理実験によって、変性処理の有効性を確認した。

## 参考文献

- (1)樋田淳平ら、木材学会誌, vol. 53, 34-39, 2007 (2)Shinichiro T, et al., J. Wood Sci., vol. 51, 421-423, 2005 (3)中西準子ら、詳細リスク評価書シリーズ11 アセトアルデヒド, 丸善, 2007年 (4)E. A. Cossins, et al., Phytochemistry, vol. 7, 1125-1134, 1968 (5)K. Yoshida, et al., Tree Physiology, vol. 27, 1-9, 2007 (6) L. Jin, et al., Journal of Inorganic Biochemistry, vol. 98, 1331-1337, 2004