

氏 名	チャイヤー パニントラック Chaiya Panintrarux
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 925 号
学位授与の日付	平 成 9 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	農 学 研 究 科 ・ 食 品 工 学 専 攻
学位論文題目	Enzymatic Synthesis and Chromatographic Separation of Alkyl β-D-Glucosides (アルキル β -D-グルコシドの酵素合成とクロマトグラフ分離)
論文調査委員	(主 査) 教 授 松 野 隆 一 教 授 池 田 篤 治 教 授 井 上 國 世

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は非イオン性の界面活性剤であり、台所用洗剤やタンパク質可溶化剤などとして利用されるアルキルグルコシドを、加水分解酵素 β -グルコシダーゼの逆反応である縮合反応によって合成し、さらに液体クロマトグラフ法によって分離・精製するプロセスの構築を目的として行った研究をまとめたものであり、2部5章よりなっている。

第1部は、グルコースとアルコールの縮合反応によるアルキル β -D-グルコシドの酵素合成について述べている。酵素はアーモンド由来の β -D-グルコシダーゼ (EC 3.2.1.21) を用いた。

まず、第1章では、基質であるアルコール自体を有機相とする水/有機溶媒二相系反応による β -D-グルコシドの合成について報告している。グルコース 2.5mol/L という高濃度下で反応を行った結果、アルコール鎖長 6~12 のアルキル β -D-グルコシドの合成が可能であり、その平衡収率は鎖長とともに減少した。一方、主反応である生成物生成反応、アルコールの水相への溶解、グルコースの縮合による二量体化、生成物の有機相への分配および二量体化を考慮して、生成物の平衡収率を関連パラメータのもとに推定する式を提出し、実験結果と比較したところ良好な一致を見た。また、生成物生成の平衡定数は鎖長によらず 1.90 で一定という知見が得られた。

平衡収率の推算式によれば、有機相と水相の比が大きいほど収率が高まることが期待される。第2章では、その条件を満たすため、緩衝液を飽和させたアルコールに粉末状の酵素とグルコースを添加する反応方式による 1-オクチル β -D-グルコシドの合成について述べている。本系においては、固型グルコースおよび酵素がアルコール相の水を抽出して溶解し、粘稠な水相を形相して縮合反応が進行し高い生成物収率が得られた。また、この系では酵素が極めて安定であり、さらに反応終了後粘稠な水相とアルコール相を容易に分離することができた。そこで、反応が平衡に達した後アルコール相を回収するとともに、同量のアルコールと生成物の物質質量に相当するグルコースを加えることにより、酵素を繰り返し利用する反応方式を考案した。その結果、1回の反応の収率は25%程度であるが、4回の繰り返し反応で約60%のグル

コース基準の反応収率を得ることができた。

第1章に示した二相系反応におけるグルコースと二級アルコールとの縮合反応の平衡収率は極めて低い。そこで第3章では、炭素数6～8の2-アルコールとグルコースの縮合反応を第2章で示した反応方式で行った結果を示している。例えば、2-ヘキサノールの縮合反応では4回の繰り返しにより収率32%を達成した。なお、この反応では(*S*)-および(*R*)-アルコール両者ともアルキル基供与体として作用した。

第2部においては、アルキル β -D-グルコシドの液体クロマトグラフ分離について報告している。

生成物と残存アルコールの分離生成に適したクロマトグラフ用ゲルとして、多孔性トリメチロールプロパントリメタアクリレートホモポリマーゲル(TMP)を見出し、第4章に、分離に適した溶離液組成(メタノール/水またはアセトニトリル/水混合液)の実験的な決定と、分配係数の溶離液組成依存性を説明する新たに提出したモデルについて説明している。このモデルにおいては、ゲルと溶媒の界面に溶媒または溶質が吸着することにより界面エネルギーが減少することを仮定している。最終的に、アルキル β -D-グルコシドまたはアルコールのゲルへの分配係数は、それらの表面張力と溶媒の表面張力、さらに界面における溶質の専有面積との関数として表される。実験結果との対比の結果、モデルの妥当性が示されている。

分取を目的とする分離プロセスにおいては、吸着等温線が線形に近似できず、Langmuir 型および Freundlich 型になることが多いが、そのパラメータの決定は容易ではない。そこで、第5章では、たった1本のパルス応答曲線からこれらのパラメータを簡単に推定する方法を考案し、実験的にその妥当性を検討している。このモデルは、吸着物質濃度が一定の点は一定の速度で移動するという原理に基づいており、クロマトグラムの後半部分(rear boundary)の挙動からパラメータを決定する。既存の方法で求めた結果と良好な一致が見られ、提案法の妥当性と有用性が示された。

論文審査の結果の要旨

非イオン性の界面活性剤であるアルキルグルコシドは多くの用途があるが、現在、グルコースとアルコールから化学合成法によって生産されている。グルコースには反応性がほぼ等しい多数の水酸基があるため、保護基の導入とその脱離を必要とする煩雑さがあることや、使用される触媒が有害である場合があるなどの難点がある。このような現状に鑑み、本研究では、加水分解酵素が、有機溶媒-水二相系あるいは含水有機溶媒系のような水の少ない系で逆反応である縮合反応を行うことに着目し、アーモンド起源の β -グルコシダーゼ(EC 3.2.1.21)を用いてアルキルグルコシドを合成し、液体クロマトグラフ法で分離・精製するプロセスを構築することを目指して研究を展開した。成果として評価すべき点は次の通りである。

(1) 酵素とグルコースを含む水(緩衝液)相および基質である直鎖アルコール自体を有機相とする二相系反応法を提案し、アルキル鎖長6から12のアルキル β -D-グルコースの合成が可能であることを示した。さらに、二相間の基質、生成物の分配ならびに多量体化、グルコース同士の縮合を考慮した反応モデルを立て、アルキル β -D-グルコシドの平衡収率を予測する式を提出し、実験的にその妥当性を示した。また、本縮合反応の平衡定数はアルキル鎖長に依存しないことを明らかにした。

(2)緩衝液を飽和したアルコールに粉末状の酵素とグルコースを添加すると、グルコースによって水が抽出されグルコースと酵素の極めて粘稠な水相が出現し、そこで効率的に縮合反応が進行し、高い生成物収率が得られることを明らかにした。さらに、この水相において酵素が極めて安定であり、また、水相とアルコール相の分離が容易なため、酵素を繰り返し利用する反応方式を提案し、その実現性を実験的に検証し、グルコース基準で60%の高い収率を得た。

(3)グルコースと二級アルコールとの縮合反応に、(2)の反応方式を適用し、4回の繰り返し反応を行ったところ、(1)の二相系反応に比較して極めて高い収率を得、2-アルキル β -D-グルコシド合成の可能性を見い出した。

(4)各種アルキル鎖長のアルキル β -D-グルコシドとアルコールを分離するための液体クロマトグラフ用充填剤として、多孔性トロメチロールプロパントリメタアクリレートホモポリマーゲルが適していることを見い出し、分離に最適な溶離液組成(メタノール/水またはアセトニトリル/水系)を決定した。さらに、ゲルと溶質、溶媒の界面科学的考察により、ゲル-溶媒間の溶質の分配係数を溶質、溶媒の表面張力および溶質の界面専有面積から推算する式を提出した。

(5)非線形な吸着等温式である Langmuir 式および Freundlich 式のパラメータを1本のパルス応答曲線から求める簡便な方法を提出した。さらに、吸着等温線の型を判別する規準を示した。

以上のように本論文は、アルキル β -D-グルコシドの酵素合成法の反応方式並びに設計法を提案し、さらに生成物の合理的な分離・精製に関して、実験的並びに理論的な基礎的知見を得たもので、酵素化学、生物物理学、農産製造学に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士(農学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成9年2月18日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士(農学)の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。