

# 論文内容要旨 (和文)

平成 17 年度入学 大学院博士後期課程

物質生産 工学専攻 エネルギー環境工学 講座

氏 名 長谷川 智 (印)

論文題目 酵素による乳酸エステル合成法の開発

反応に要するエネルギーの削減 および 副反応の抑制を主な目的とし、従来の化学合成法に代わって、「酵素を触媒とした乳酸エステル合成法」の研究を行った。しかしながら、乳酸を酵素反応へ適用するには、乳酸の高い「酸性」と「極性」、すなわち「乳酸による、酵素の酸失活」と「“酵素が安定な”疎水性有機溶媒への、乳酸の低い溶解性」が大きな問題となる。しかし研究の結果、これらの課題に対して以下の解決法を見出すことが出来た。

- 1) 有機溶媒中（非水系）における酵素反応では、“乳酸と混和する”「極性溶媒」は酵素を失活させる傾向が強いため、反応溶媒としては「疎水性溶媒」が主に用いられている。しかし酵素との組合せが適切であれば「極性溶媒」も酵素反応へ使用可能であることを確認した。さらに、極性溶媒の「塩基性」が乳酸の「酸」を緩和する働きにより、乳酸濃度が高い条件でも酵素の酸失活を抑制しつつ、エステル化反応が可能となることを見出した。
- 2) “疎水性だが乳酸と混和する” エーテル・ケトン類も反応溶媒に適していることを確認した。さらにこれらの溶媒は、極性溶媒と比べて溶媒の酵素への悪影響が少ないため、より多くの種類の酵素へ適用可能であった。
- 3) 本反応のもう一方の基質であるアルコールについても、反応溶媒との適切な組合せによって酵素の酸失活を抑制する効果のあることを見出した。すなわち、「塩基性の高い（中鎖）アルコールは塩基性の高い極性溶媒と」、「極性の高い（短鎖）アルコールは疎水性エーテル・ケトンと」、それぞれ組み合わせることによって、より高濃度の乳酸に対しても酵素失活を抑制しつつ酵素によるエステル化が可能となった。

以上の知見を基に反応条件を最適化した結果、乳酸高濃度 (2.0 M) 長期間 (4 週間) 連続の合成反応においても、酵素の失活をほぼ完全に抑制しながら乳酸エステルの合成に成功し、本酵素合成法の工業的な実現可能性をも示すことが出来た。また本研究成果は、従来困難と考えられてきた「極性・酸性物質の非水系酵素反応への適用」を可能とするものであり、乳酸以外の様々な極性・酸性物質への応用も期待できる。

学位論文の審査及び最終試験の結果の要旨

平成 20年 7月 28日

理工学研究科長 殿

課程博士論文審査委員会

主査 高橋 幸司 教授

副査 榎 雄二 教授

副査 會田 忠弘 教授



学位論文の審査及び最終試験の結果を下記のとおり報告します。

記

1. 論文申請者

専攻名 物質生産工学  
氏名 長谷川 智

2. 論文題目 (外国語の場合は、その和訳を併記する。)

酵素による乳酸エステル合成法の開発

3. 審査年月日

論文審査 平成 20年 7月 23日 ~ 平成 20年 7月 28日  
論文公聴会 平成 20年 7月 28日  
場所 山形大学工学部 VBL 3F 秦ホール  
最終試験 平成 20年 7月 28日

4. 学位論文の審査及び最終試験の結果 (「合格」・「不合格」で記入する。)

(1) 学位論文審査 合格  
(2) 最終試験 合格

5. 学位論文の審査結果の要旨 (1,200字程度)

別紙のとおり

6. 最終試験の結果の要旨

別紙のとおり

## 別紙

専攻名	物質生産工学 専攻	氏名	長谷川 智
学位論文の審査結果の要旨			
<b>第1章 緒言</b>			
酵素による乳酸のエステル化反応の目的と背景、そして既往の研究成果（およびその限界）について述べ、本研究の方針を明確にした。			
<b>第2章 実験材料・酵素一覧</b>			
本研究において使用した薬品・酵素（工業用製品）について示した。			
<b>第3章 乳酸エチル合成用酵素の選定</b>			
乳酸のエステル化反応に適した酵素製品の選定について、その方法と結果について述べた。			
<b>第4章 酵素による乳酸エチルの合成1：極性有機溶媒</b>			
乳酸のエステル化反応の溶媒として、従来の定説では「不適」と考えられてきた極性溶媒の適正を明らかにし、溶媒の塩基性による酵素酸失活の抑制の重要性を示した。			
<b>第5章 酵素による乳酸エチルの合成2：疎水性エーテル・ケトン</b>			
「疎水性だが乳酸と混和する」エーテル・ケトン類の本反応における溶媒としての適正とその酵素活性安定化の反応機構、および酵素反応に対する優れた汎用性を明らかにした。			
<b>第6章 酵素による乳酸エステル合成：中鎖アルコールとのエステル化</b>			
乳酸と中鎖アルコールを基質とした酵素反応も可能であることを示した。			
<b>第7章 Flow（流通）方式による乳酸のエステル化</b>			
工業的実用化を見据え、Flow方式によるエステル合成も可能であることを示した。			
<b>第8章 新規乳酸生成プロセスの提案：溶媒抽出・酵素エステル化</b>			
疎水性エーテル・ケトン溶媒による発酵液からの乳酸の抽出および酵素エステル化が可能であることを確認し、従来法よりも製造エネルギー・コストの大幅な削減の可能性を示した。			
<b>第9章 結言：酵素による乳酸のエステル化反応 総括</b>			
本研究成果についてまとめ、その意義と応用展開について考察した。			
【論文】			
1. <u>Satoshi Hasegawa, Masanori Azuma, Koji Takahashi</u> , "Stabilization of enzyme activity during the esterification of lactic acid by using hydrophobic ethers and ketones as reaction media that are miscible with lactic acid despite their high hydrophobicity", <i>Enzyme and Microbial Technology</i> (2008) <b>43</b> , 309-316.			
2. <u>Satoshi Hasegawa, Masanori Azuma, Koji Takahashi</u> , "Enzymatic esterification of lactic acid, utilizing the basicity of particular polar organic solvents to suppress the acidity of lactic acid", <i>Journal of Chemical Technology &amp; Biotechnology</i> , in press.			
【特許】			
1. <u>長谷川智、東都雅典、高橋幸司</u> 「酵素による乳酸エステルの合成法」特願 2007-323584			
2. <u>東都雅典、長谷川智、石黒次郎、高橋幸司</u> 「乳酸エステルの製造方法」特願 2007-043287			
以上を総合的に判断して、本論文が博士論文として十分な価値を有するものと認め、よって合格と判定した。			
最終試験の結果の要旨			
本研究の目的である「乳酸の酵素によるエステル化」は、二つ大きな問題点により従来は非常に困難と考えられてきた：すなわち、乳酸は“疎水性有機溶媒（酵素活性への悪影響が少ないため、非水系の酵素反応における反応溶媒として望ましいとされる）への溶解性が低く”、さらに“乳酸の酸性によって酵素失活を引き起こす”ためである。これらの問題に対して本研究では、定説では「不適」と考えられてきた極性溶媒等の乳酸と混和する反応溶媒を用いて、溶媒の塩基性が乳酸の酸を緩和することを示し、酵素の酸失活が抑制されることによって高濃度乳酸の酵素によるエステル化 および 連続反応における酵素の長期安定化を実現した。			
以上の研究内容および関連分野について学位論文および最終試験において確認した結果、学識・能力は十分であり、よって合格と判定した。			