

# 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 佐 野 千 明

旨味調味料として用いられるグルタミン酸ナトリウムは、微生物による発酵法でグルタミン酸を生産した後、結晶化を中心とした分離精製法を用いてグルタミン酸ナトリウム1水和物結晶として製品化されている。この分離精製プロセスは、工業生産全体における環境負荷や製品品質を決定するために非常に重要な位置づけにあるが、そのプロセス開発は経験的、試行錯誤的に行われてきた。本論文は、このようなプロセス開発をより論理的、合理的に実施し、さらに新規な機能を持つ結晶を発見することを目標として、グルタミン酸が形成する様々な結晶形態の特徴と結晶構造との関連性に着目して解析したものである。

第1章では、本論文の目的を述べ、結晶成長の基礎概念をまとめた。

第2章では、グルタミン酸ナトリウム1水和物結晶形状に与える、L-アラニン (L-Ala) D-グルタミン酸 (D-Glu) などの不純物の影響に着目し結晶構造との関連を調べた。グルタミン酸ナトリウム1水和物結晶はc軸方向に伸びる針状結晶であるが、L-Ala添加では結晶形状は太く短く、D-Glu添加では細長くなった。また、L-Alaは結晶先端面 {121} に、D-Gluは側面 {110} に多く検出された。グルタミン酸ナトリウム1水和物結晶のX線構造解析を行い、先端面 {121} と側面 {110} における各半結晶位置 (kink) における水素結合を調べた。その結果、L-AlaがGlu分子と同様の強さで吸着可能なkinkは {121} には {110} よりも4倍多く、またD-Gluでは同様なkinkが {110} には {121} より2倍多く存在し、構造的にも不純物が特定結晶面への特異的に吸着してその結晶面の成長阻害を生じさせ、結晶形状が変化させることが解明された。

第3章では、常温で析出するグルタミン酸ナトリウム1水和物結晶 (以下MHFと略) と、低温で析出するグルタミン酸ナトリウム5水和物結晶 (以下PHFと略) における他アミノ酸淘汰性の差と結晶構造との関連を調べた。PHFはMHFに比較して成長時、他アミノ酸 (L-Thr, L-Ala, L-Lys L-Phe, L-Asp, L-Leu) の影響を受けにくく、結晶中への他アミノ酸の取り込みも1/7~1/30と少なかった。PHFのX線結晶構造解析の結果、PHFはNa-水錯体層を挟む形でGlu分子層が形成される特徴的な三層構造を形成し、Glu分子が形成する水素結合数もMHFに比較して2倍多かった。このPHFの構造的特徴がMHFに対し分子識別力が高い理由と解析できた。

第4章では、グルタミン酸が形成する結晶多形 ( $\alpha$ 形、 $\beta$ 形) の各結晶面の成長速度とこれらの成長速度に対する他アミノ酸の影響を調べた。不純物無添加では、 $\alpha$ 形は粒状で等方的な成長をしたが、 $\beta$ 形は板状で非常に異方的な成長を示した。この原因は $\beta$ 形結晶の {010}, {001} 各面ではc軸方向の水素

結合形成が二分子単位で安定化するので、一分子のみがkinkに吸着する際の安定性が悪く、一分子のみで安定化できる{101}面に対して成長速度が著しく低くなるためと考えられた。また、 $\alpha$ 形は $\beta$ 形に対して他アミノ酸による成長阻害を受けにくく、他アミノ酸の取り込みも少なかったが、この理由は $\alpha$ 形の{001}面が、 $\alpha$ 形、 $\beta$ 形の他の面と異なりGlu分子のL- $\alpha$ -アミノ酸構造と同時に $\gamma$ -カルボキシル基を識別する能力があるためと解析できた。

第5章では、L-フェニルアラニン(L-Phe)による $\alpha$ 形、およびグルタミン酸の $\gamma$ -ジペプチドである $\gamma$ -グルタミルグルタミン酸( $\gamma$ -Glu-Glu)による $\beta$ 形の選択的結晶化効果を構造面から解析した。L-Pheの $\alpha$ 化の機構は結晶表面への吸着による成長阻害の差( $\beta$ 形のすべての面を阻害するが、 $\alpha$ 形の{001}面を阻害しない)により、 $\alpha$ 形が $\beta$ 形に対して優位に成長できるためと考えられた。 $\gamma$ -Glu-Gluの $\beta$ 化作用は $\gamma$ -Glu-Gluが $\alpha$ 形、 $\beta$ 形のすべての結晶面を阻害したため結晶成長阻害からは説明はできなかった。しかし、 $\gamma$ -Glu-Glu添加で析出する $\beta$ 形結晶形状が非常に乱れたこと、また $\gamma$ -Glu-Gluの $\beta$ 形結晶中への取り込み割合が非常に大きかったことから、 $\gamma$ -Glu-Gluの成長阻害作用の機構は、 $\alpha$ 形のような表面吸着ではなく、Glu分子と同等に結晶構造中に取り込まれて混晶(mixed crystal)を形成するためと考えられた。また、末端がアミド化した $\gamma$ -グルタミルグルタミン( $\gamma$ -Glu-Gln)が $\gamma$ -Glu-Gluに対して約1/3の強度の $\beta$ 化作用を示したことから、 $\gamma$ -Glu-GluはGlu2分子分として $\beta$ 形結晶に取り込まれることがわかった。以上から、 $\gamma$ -Glu-Gluによる $\beta$ 化作用は、 $\alpha$ 形のすべての面を阻害すると同時に $\beta$ 形結晶に取り込まれ、 $\beta$ 形結晶成長における成長の律速段階である{010}、{001}面での一分子吸着時の不安定性を解消し $\beta$ 形結晶析出を促進することによると解釈できる。

第6章では、これまでの結果を総括し、第7章では今後の展望として、本研究で得られた結晶成長とその制御理論を応用して、従来経験的に行われてきた結晶調製を論理的に制御できること、また、他のアミノ酸生産への広範な応用が可能であることを述べた。

以上、本論文はグルタミン酸およびその塩の結晶の成長とその制御機構を実証的かつ理論的に解析したもので、学術上、応用上貢献することが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士(農学)の学位論文として価値あるものと認めた。