

# 11p20 ポリ乳酸分解酵素のポリ-D-乳酸及びポリ-L-乳酸に対する選択性分解

○西岡 笑美子, 中台 航介, 中嶋 元, 小原 仁実, 河合 富佐子  
(京工織大・バイオベースマテリアル研究センター)

【目的】Proteinase K、Pronase等のプロテアーゼ及びリパーゼやクチナーゼ様酵素によるポリ-L-乳酸(PLLA)の分解が報告されている。また、ポリ-D-乳酸(PDLA)分解菌が報告されているが、酵素分解に関する報告はない。そこで、本研究では種々のプロテアーゼ及びリパーゼの分解能とそれらのPDLA及びPLLAに対する選択性を調べた。

【方法】PDLA、PLLAを塩化メチレンに溶解させ、各酵素の至適pHの緩衝液を加えて超音波攪拌を行った。得られた分散液を60℃の湯浴に浸けて臭いが無くなるまで塩化メチレンを揮発させたものをPDLA及びPLLAの懸濁液とした。これに各酵素を添加し、それぞれの至適温度で反応を行った。分解度は波長660 nmにおける吸光度の減少で測定した。また、PDLA及びPLLAキャストフィルムを作成し、各酵素の至適条件で反応を行い、GPC及びX線回折で分解度を確認した。

【結果】PLLA分解酵素として知られているProteinase KはPLLAの懸濁液及びフィルムに対して良好な分解性を示したが、PDLAに対しては全く分解性を示さなかった。しかし、PLLA分解能が報告されている*Cryptococcus* sp. S-2由来のクチナーゼ様酵素はPDLAをも分解することを見出した。そこで各種プロテアーゼ及びリパーゼのPLLA及びPDLAに対する選択的分解性を調べた結果を報告する。また、分解酵素はフィルムに対しても分解性を示し、分解後のフィルムでは結晶性が低下していたことから、分解機構の推察を行った。

## Enantioselective degradation of D- and L-poly(lactic acid)(PLA) by different classes of PLA depolymerases

○Emiko NISHIOKA, Kosuke NAKADAI, Hajime NAKAJIMA,  
Hitomi OHARA, Fusako KAWAI  
(R&D Center for Bio-based Materials, Kyoto Inst. Tech.)

**Key words** poly(lactic acid) (PLA), PLA depolymerases, proteinase K, cutinase

# 11p22 エステル化による発酵 (R)-3- ヒドロキシ酪酸の回収と精製

○照屋 正映, 常盤 豊, 市場 俊雄  
(沖縄県工技セ)

【背景・目的】最近、自然環境中での生分解性に優れ、バイオマスから発酵生産できる生分解性プラスチックとしてポリ-(R)-3- ヒドロキシ酪酸(PHB)の工業生産が注目されている。しかし、菌体内から抽出されたPHBは、精製が難しく不純物を含んでいるため、成形加工時に異臭を放つなどの問題が指摘されてきた。そこで、精製が容易なPHBのモノマー、(R)-3-ヒドロキシ酪酸(3HB)をバイオマスから発酵生産する研究が盛んである1)。今回、3HBを蒸留法で精製するため、3HBのエステル化について検討したので報告する。

【実験方法・結果】3HBのエステル化は、酸触媒存在下、還流法によりメタノール、エタノール、プロパノール、ブタノールについて検討を行った。得られたエステルは減圧蒸留した後、NMRで確認した。

3HBエステルの収率は、アルコールの種類に依存した。この原因は、それぞれのアルコールの沸点により還流温度が異なるため、エステル化と高分分子化の反応速度の違いが反映したものと考えられた。また、3HBエステルの蒸留温度による、ラセミ化や異性化、環状化についても検討を行った。

1) Y. Tokiwa, C.U. Ugwu, J. Biotech., 132, 264-272(2007)

## Recovery and purification of a fermented product, (R)-3-hydroxybutyric acid by esterification

○Shoei TERUYA, Yutaka TOKIWA, Toshio ICHIBA  
(Okinawa Ind. Tech. Center)

**Key words** 3-hydroxybutyric acid, esterification, fermentation, biodegradable plastic

# 11p21 Production of (R)-3HB by Azohydromonas lata with low-cost raw materials

○Charles Uchenna UGWU, Yutaka TOKIWA, Toshio ICHIBA  
(Okinawa Ind. Tech. Center)

## 【Introduction】

(R)-3-hydroxybutyric acid ((R)-3-HB) is a monomer of poly(3-hydroxybutyrate) (PHB) and also the major in vivo ketone body. Recently, (R)-3-HB has received much attention because of its economic importance in the production of antibiotics and a variety of biodegradable products. Previous studies with mutants of *Cupriavidus necator* (obtained by UV mutagenesis) revealed interesting pathways for cell growth, production of PHB and (R)-3-HB<sup>1)</sup>. In this study, screening and fermentation processes were carried out using *Azohydromonas lata* (PHB producer) along with various low-cost raw materials to produce (R)-3-HB.

## 【Methodology and Results】

*A. lata* was screened for the ability to produce (R)-3-HB extracellularly. Thus, *A. lata* was treated with UV light to generate mutant strains that can produce (R)-3-HB extracellularly. Furthermore, various concentrations of glucose, sucrose and molasses were tested with the strains. Among all the carbon substrates used, molasses proved to be the most suitable one in terms of the cost and availability of other ingredients that can supplement the culture medium. Studies are underway to optimize the production of (R)-3-HB with the generated mutants of *A. lata*.

1) Ugwu et al., J. Appl. Microbiol. 105, 236-242 (2008)

## Production of (R)-3HB by Azohydromonas lata with low-cost raw materials

○Charles Uchenna UGWU, Yutaka TOKIWA, Toshio ICHIBA  
(Okinawa Ind. Tech. Center)

**Key words** molasses, (R)-3-hydroxybutyric acid, mutant, fine chemical

# 11p23 亜熱帯地域（沖縄）で分離した好アルカリ性微生物による乳酸の生産

○世嘉良 宏斗, 常盤 豊, 市場 俊雄  
(沖縄県工技セ)

【背景・目的】亜熱帯海洋性気候に属する沖縄には多種多様な生物資源が存在しており、生息する微生物のなかにも特異な性質を持つものが含まれていると考えられる。我々は産業系副産物等の未利用バイオマスを発酵原料として、効率的に乳酸生産することを目的に、好アルカリ性微生物のスクリーニングを行った。今回は沖縄本島で採取したサンプルから分離した好アルカリ性微生物の特性について検討したので報告する。

【方法】菌の分離源として沖縄本島の陸上およびサンゴ礁域で採取した様々な種類のサンプルを用いた。好アルカリ性微生物の分離はpH10に調整したグルコース、酵母エキス、ポリペプトン等を含む寒天平板培地を用いて行った。培養液中の乳酸は、高速液体クロマトグラフィーと酵素キットにより定量した。

【結果】沖縄本島内で採取した菌をスクリーニングした結果、好アルカリ性微生物として多数の株を分離した。得られた分離株のいくつかはグルコースの他に、フラクトース、スクロース、マンノースなど種々の糖を代謝し、乳酸を生産した。乳酸の高濃度生産についても検討したので報告する。

## Lactic acid production by alkaliphilic microorganisms isolated from semi-tropical region (Okinawa)

○Hiroto YOKARYO, Yutaka TOKIWA, Toshio ICHIBA  
(Okinawa Ind. Tech. Center)

**Key words** lactic acid, alkaliphilic, biomass, fermentation