

| | |
|--------------|---|
| Title | 細胞膜酵素を利用したアルコールセンサーに関する研究 |
| Author(s) | 北川, 泰 |
| Citation | |
| Issue Date | |
| Text Version | none |
| URL | http://hdl.handle.net/11094/37814 |
| DOI | |
| rights | |
| Note | |

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

| | |
|------------|--|
| 氏名 | きたがわ やすし 北川 泰 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士（工学） |
| 学位記番号 | 第 10046 号 |
| 学位授与年月日 | 平成 4 年 2 月 25 日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 4 条第 2 項該当 |
| 学位論文名 | 細胞膜酵素を利用したアルコールセンサーに関する研究 |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 菅 健一 (副査) 教授 高野 光男 教授 吉田 敏臣 教授 山田靖宙 |

論文内容の要旨

選択性が高く、長期間使用しても安定なアルコールセンサーの開発は種々の醗酵工業におけるプロセスコントロールで必要とされている。

本論文は、次の 5 章から構成される。

第 1 章は緒論であり、これまでに開発された醗酵プロセス用オンラインアルコール計測技術の特徴、酢酸菌のエタノール酸化酵素系を利用した場合の利点について述べ、本研究の目的を明確にした。

第 2 章では、酸素電極上にエタノール酸化酵素系を含む細胞膜画分を固定化したアンペロメトリックなセンサーの特性を検討し、このセンサーが従来利用されてきたアルコールオキシダーゼを用いた酵素センサーに比べて選択性の優れたセンサーであり、2 週間以上使用できることを明らかにした。

第 3 章では、微小な pH 電極であるイオン感応性電界効果型トランジスタ (ISFET) 上に細胞膜画分または菌体を固定化したポテンシオメトリックなセンサーの特性について検討し、これらの ISFET を用いたセンサーは選択性に優れた微小なアルコールセンサーであるが、短時間しか安定した測定が行えないことを明らかにした。

第 4 章では、酢酸菌のエタノール酸化酵素系のキー酵素である膜結合性 ADH を精製、固定化したアンペロメトリックな酵素センサーの特性について検討し、このセンサーが上記の細胞膜画分を用いた 2 種類のセンサーに比べて選択性、安定性の双方に優れた特性をもつこと、一ヶ月間以上の使用が可能であることを明らかにした。

第 5 章では、第 4 章で開発した膜結合性 ADH を用いたアルコールセンサーの実用化を目的として、オンライン測定用の試作機を製作し、その評価を行った。この試作機はエタノール約 15 vol % まで測定

できること、パン酵母を用いたアルコール醗酵の自動モニタリングに適用した場合、この試作機の測定値は従来法による測定値と良く一致することを示し、この試作機が醗酵工程におけるオンライン計測に有用であることを明らかにした。

最後に、第6章で本研究で得られた主要な結論を総括した。

論文審査の結果の要旨

種々の発酵工業におけるプロセスコントロールにおいて選択性が高く、長期間使用しても安定なアルコールセンサーの開発が望まれている。これまでに種々のオンライン計測用センサーが研究されてきたが、簡便性、選択性、安定性等の点で各々一長一短があった。本論文は、特異性に優れた広い pH 領域で安定である膜結合性ADHに着目し、この酵素を含むエタノール酸化酵素系及び膜結合性ADHそのものを利用した、選択性、安定性に優れた新しいアルコールセンサーを開発し、オンライン計測へ応用しようとするものであり、その主な成果を要約すると次の通りである。

- (1) 酢酸菌のエタノール酸化酵素系を含む細胞膜画分を利用した2種類のアルコールセンサーについて検討している。1つは酸素電極上に細胞膜画分を固定化したアンペロメトリックなセンサーであり、もう1つは、微小な pH 電極である I S F E T 上に細胞膜画分を固定化したポテンシオメトリックなセンサーである。これらの結果は、細胞膜画分を利用したバイオセンサーの選択性、安定性について重要な知見を与えている。また、I S F E T を用いたセンサーのマイクロ化によって、本センサーの多機能センサーへの応用の可能性も示している。
- (2) エタノール酸化酵素系のキー酵素である膜結合性ADHを精製し、固定化した酵素センサーについて検討し、この酵素センサーが選択性、安定性の双方について従来のバイオセンサーや酢酸菌の細胞膜画分を用いたセンサーに比べて優れた特性を持っていることを確認し、さらにこのセンサーによる種々のアルコール飲料中のエタノール濃度の測定値が従来法であるガスクロマトグラフィーによる測定値と良く一致することから、本センサーの実用性を示している。
- (3) 膜結合性ADHを用いたアルコールセンサーの実用化を目的として、オンライン測定用の試作機を作製し、その特性を検討している。さらに、この試作機をパン酵母を用いたアルコール発酵の自動モニタリングに適用した結果を評価することによって、この試作機が発酵工程のオンライン計測に有用であることを示している。

以上のように、本論文は、発酵工程のアルコール計測に利用できる選択性、安定性に優れたセンサーの開発を目的として、エタノール酸化酵素系を含む細胞膜画分および膜結合性ADHを利用した新しいアルコールセンサーを開発し、その特性と有用性について述べると共に、オンライン計測用の試作機の作製と評価を行い、その実用性と今後の展開について論じたものであり、発酵工学、計測工学、の発展および各種酒類製造業、発酵工業の発展に貢献するところが大きい。よって、本論文は博士論文として価値あるものと認める。