

温度制御によるL-グルタミン酸結晶の 選択的晶析装置の試作

田中 孝国^{*1}, 小林 陵^{*2}, 中村 一穂^{*3}

Making of selective crystallization unit of L-glutamic acid
by the temperature control

Takakuni TANAKA, Ryo KOBAYASHI and Kazuho NAKAMURA

Crystallization is the purification process where a solid forms organized in a structure known as a crystal. This process consists of two major factors, nucleation and crystal growth which are driven by thermodynamic properties as well as chemical properties. A crystal formation is to dissolve the solid in a solution at high temperatures to obtain supersaturation. The dissolved solution is allowed to slowly cool. In this report, the effects of operating conditions including cooling rate and temperature gradient were investigated on the morphology evolution of L-glutamic acid in batch tank. Based on the crystal morphology growth during the crystallization process, it was found that the products tend to be needle-like or plate-like under a slow cooling rate. The operating conditions of a faster cooling rate and higher initial super saturation tended to produce wide plate-like crystals. The aspect ratio of crystals was taken as a shape index to analyze the crystal morphologies. Experimental verifications were performed to illustrate the proposed guidelines on the operating conditions for cooling rate of L-glutamic acid solution.

KEYWORDS : crystallization, amino acid, L-glutamic acid

1. まえがき

食塩, うまみ調味料, 医薬品等の製造工程で利用されている晶析操作は, 液相から結晶を析出させる操作である¹⁾。結晶を析出させ, 生長させるには溶液を過飽和状態にする手法が多く見られており, 様々な手法の中で, 冷却によって溶液中の対象物質の溶解度を下げる手法(冷却晶析)は多くの報告例が見られる。一般的に, 溶解度が温度と

ともに増加する場合に, 温度を下げると飽和濃度が低下する。したがって, 冷却することで溶液を過飽和状態とすることができる²⁾。この手法は, 熱に弱い物質の分離操作が可能であることから, 生体物質の高度分離法として広く使用されている。本研究では, 晶析の基礎研究を進めるにあたって, 装置の組み立てを実施した。装置は回分式で単純冷却槽とし, 冷却水によって反応槽を外部から冷却する間接冷却法を採用した^{3-a,b)}。モデル物質と

*1 物質工学科 (Department of Materials Chemistry and Bioengineering), E-mail: Tanakatakakuni@oyama-ct.ac.jp

*2 専攻科 (Advanced Course of Materials Chemistry and Bioengineering)

*3 横浜国立大学 (Yokohama National University)

して、報告例の多いアミノ酸の1種であるL-グルタミン酸を用いた。アミノ酸は光学活性を有する物質であり、生体中ではL体が有効であると言われている。そのため、一部のアミノ酸を除いては、L体のみの製品化が主である^{4a)}。中でも旨み成分の1つであるL-グルタミン酸は、 α 型と β 型の2種類の結晶体があることが知られている。一般的なL-グルタミン酸製品は α 型とされるが、 β 型結晶の方が得やすい問題点がある。 α 型結晶は、プリズム状であり溶解度の高い準安定型の結晶であることが知られている。 β 型結晶は安定型であるものの^{3a)}、その形状が針状、薄片状であるため溶解度が低く、物理的強度に乏しく、母液との固液分離時に破損しやすく、形状を保ったまま分離することが困難な物質であることが報告されている³⁾。また、L-グルタミン酸は溶解度の温度勾配が大きい物質であり冷却晶析が向いていると報告されている^{3a)}。このように、L-グルタミン酸は最も多くの検討がされており、晶析の基本的な装置試作や操作条件の理解に適している物質であると考えられる。そのため今回我々は、回分式の間接冷却晶析装置の試作をL-グルタミン酸をモデル物質として実施した。同時に、L-グルタミン酸結晶の α 型のみを取得を目指した条件の検討も実施した。尚、結晶成長には種結晶を添加する手法(シーディング)、不純物を入れる、溶質溶媒を入れて溶解度を下げる、超音波をかけるなど様々な手法が報告されているが²⁾、本報告ではこれらの手法については未検討である。

2. 実験方法

1 [L] 容積の二重管式^{4b)}のセパラブルフラスコを用いて冷却晶析を行った^{3b)}。二重管式を採用した理由は、温度を変更させる場合、冷媒を循環させる際の振動が結晶の析出に影響することが指摘されているためである。フラスコ内の溶液の攪拌には、テフロン製の攪拌翼を用い、回転数は250 [rpm]、攪拌翼のフラスコの底からの高さを10 [mm] に設定した(図1, 2)。

実験に用いたL-グルタミン酸は試薬メーカーの特級品を用いた。このL-グルタミン酸が溶解した水溶液の濃度変化を把握するために、あらかじめ電気伝導度(EC計, EUTECH CON110)とL-グルタミン酸濃度との検量線を作成し、晶析槽内の溶液中のL-グルタミン酸濃度変化を定量的に把握

した。

晶析条件は、開始時の飽和L-グルタミン酸溶液濃度40 [g/L]、冷却速度0.5 [°C/min]、晶析温度45 [°C]、溶液を同条件で攪拌し続ける時間(以降、熟成時間)24 [hr]とした(図3)。晶析中の反応槽から30 [min] 間隔で溶液を採取した。採取した溶液は、吸引ろ過をろ紙(TOYO ROSHI 5C)を用いて行い、析出した結晶を分離した。得られた結晶を45 [°C]の乾燥器に入れ1 [day] 乾燥させ、光学顕微鏡を用いて結晶形状の観察を行った。

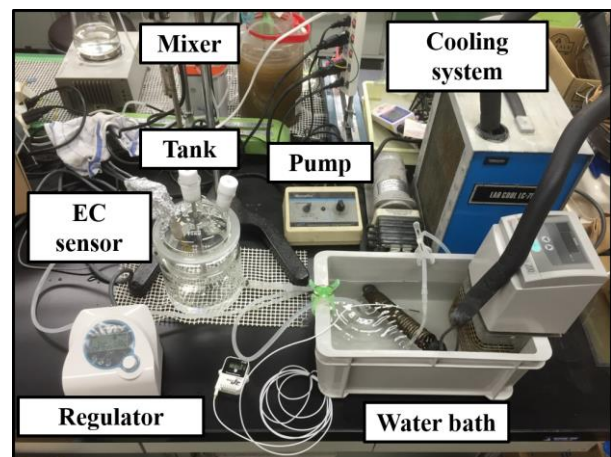


図1 組み立てた晶析装置

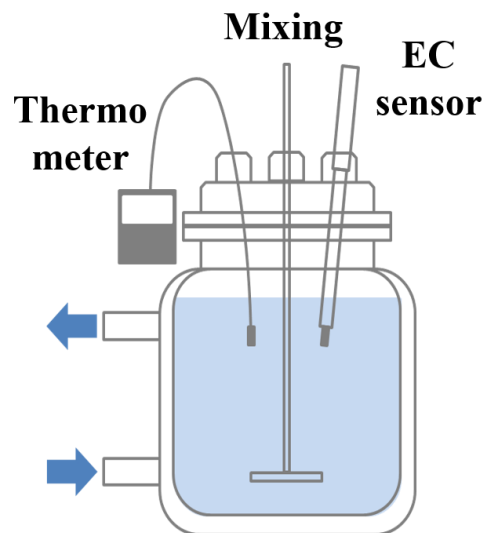


図2 反応槽のイメージ図
(図中の矢印は外部コントローラーで調整された温度調節用の水の出入りを示している)

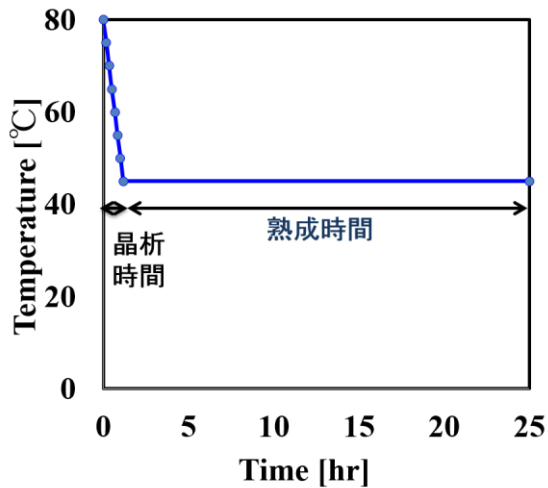


図3 晶析条件

3. 結果と考察

晶析装置内の L-グルタミン酸の濃度を定量的に把握するために、電気伝導度による把握を試みた。その結果を図3に示した。図4より、本実験における L-グルタミン酸濃度範囲 (0~40 [g/L]) では、水溶液中の濃度と電気伝導度との間に直線関係 ($R^2 = 0.99$, 式(1)) が得られ、濃度の把握が簡便に出来ることが判明した。

電気伝導度

$$= \text{L-グルタミン酸濃度} \times 11.1 + 292.5 \quad \dots (1)$$

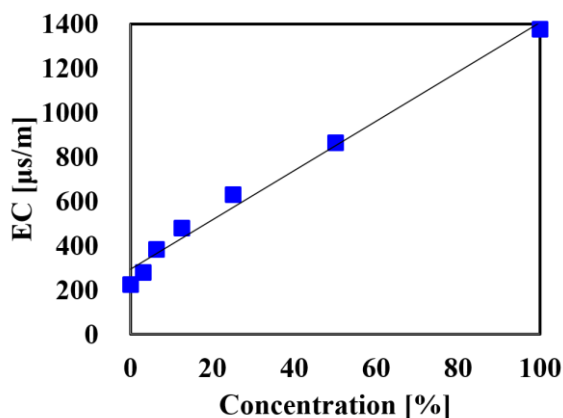


図4 電気伝導度(EC)と
L-グルタミン酸濃度の関係

図5は、晶析中の反応槽内の L-グルタミン酸濃度変化である。開始から2時間までの間に電気伝

導度が下がり、反応槽内の L-グルタミン酸濃度低下現象が見られた。その理由は、結晶が槽内に析出したため、溶解している L-グルタミン酸濃度が低下したことが考えられた。

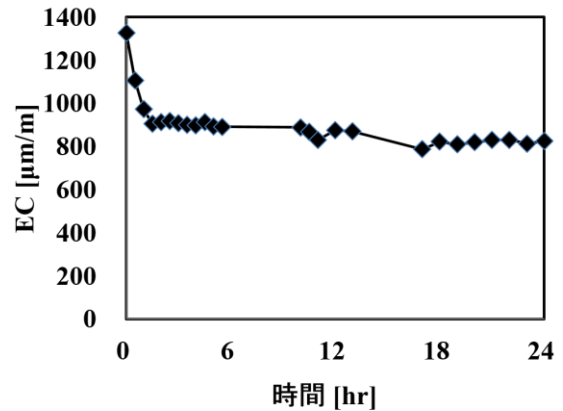


図5 熟成時間中における反応槽内の
L-グルタミン酸濃度変化

図6に光学顕微鏡を用いて観察した、熟成時間 0.5~24 [hr]帯における結晶の状態の結果を図で示した。熟成開始 0.5~1.5 時間までは、図5のプリズム型の α 型結晶 (図6の0.5および1.5hr中の小さな結晶) が多く観察された。同じ図中に見られる一回り大きな板状の結晶は β 型である。

熟成開始4時間が経過すると、図6の針状の β 型結晶が析出した。この時点で反応槽内の L-グルタミン酸水溶液の濃度は変化していなかったことから(図5)、以降の結晶系の変化は、既に析出している結晶総量で(見かけ上)生じていることが示唆された。 β 型結晶は、時間経過とともに結晶成長が見られた一方で、 α 型結晶は次第に β 型結晶へと転移していく傾向が見られた。熟成開始 10-12 時間経過後には、 α 型結晶が完全に消失することが視覚的に確認された(図6の10および12hr)。この結果は、北村の報告⁹⁾と一致した。つまり、熟成時間開始直後に析出した α 型の数は多く β 型と共存しているが、不安定な α 型はその形状を維持出来ず、徐々に安定的な β 型の結晶へ形状を変化させるという結果である。この結果は、次ページに示すアスペクト比の計算による結果からも示唆されることが判明した。

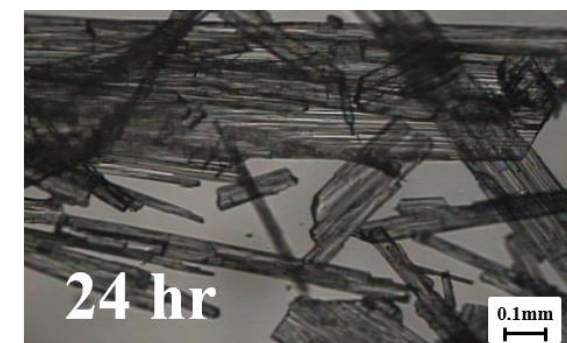
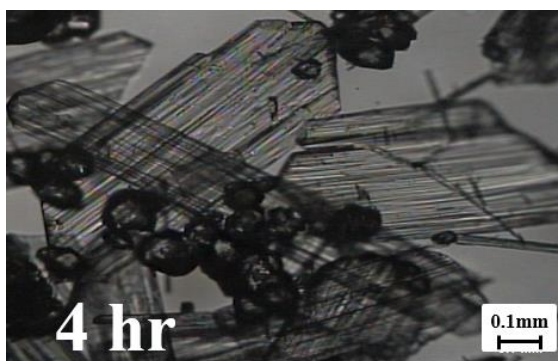
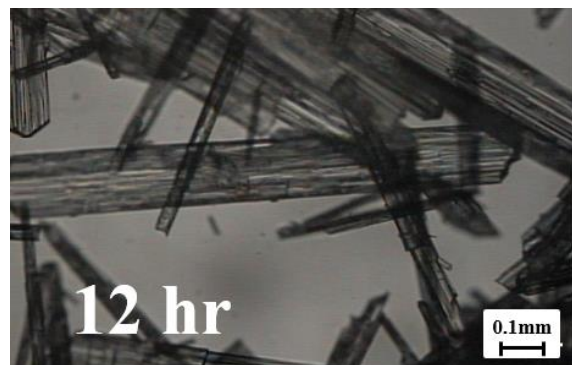
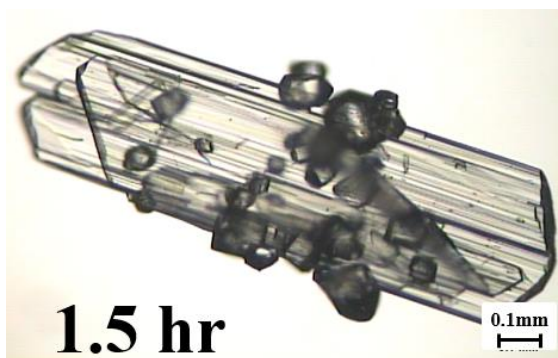
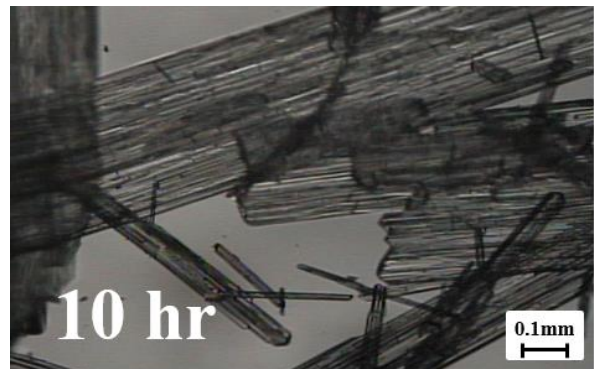
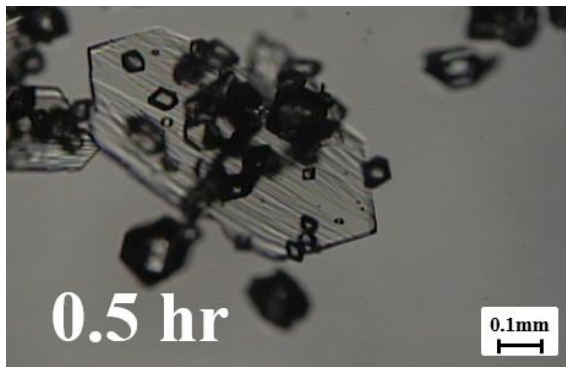


図6 観察されたL-グルタミン酸の結晶の写真
(熟成時間 0.5~24 [hr])

続いて、各熟成時間でサンプリングした結晶のアスペクト比を算出した。その結果を図7に示した。ここで、本研究におけるアスペクト比とは、結晶の短径を長径で割った値である。 α 型結晶はプリズム型であるため、アスペクト比はおよそ1.0に近い値を示すが、 β 型は針状であるため、結晶の大きさに応じて0に近い値を示す。図7より熟

成開始直後は、アスペクト比が 0.6 を示し、析出している結晶の多くが α 型であることが確認できた。その後、時間経過とともにアスペクト比は低下していき、約 5-6 時間経過後 α 型結晶は消失が始まり、 β 型結晶へと転移していくことが判明した。12 時間経過後はおそらく β 型結晶のみの成長が見られた。これらの結果から、L-グルタミン酸結晶は、まず α 型と β 型が析出し、その後 α 型から β 型への転移が起こり、 α 型が消失し、 β 型の成長が開始することが判明した。

- (b) pp.41-43, (c) pp.155-156 分離技術会 (2006)
- 4) 平山令明：有機結晶作製ハンドブック，丸善，(a) pp. 162-165, (b) pp.178-180 (2000)
- 5) 佐野千明，永嶋伸也：L-グルタミン酸結晶多形の選択的晶析，日本結晶成長学会誌，Vol.24, No.2, p.110 (1997)
- 6) 北村光孝：アミノ酸の晶析，日本結晶成長学会誌，Vol.16, No.1, p.61-66 (1989)

【受理年月日 2018年 8月20日】

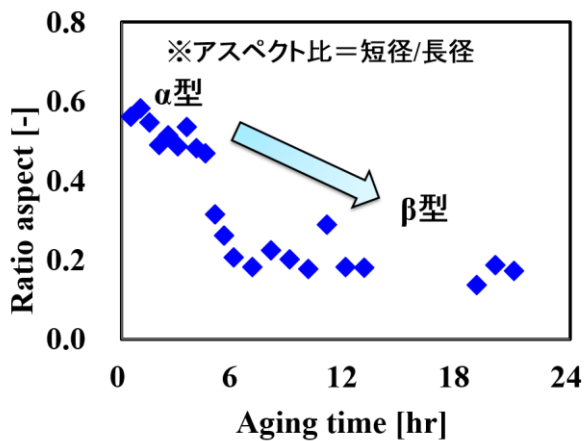


図7 熟成時間におけるアスペクト比の変化

4. あとがき

本実験では L-グルタミン酸をモデル物質として、回分冷却晶析装置の作製と結晶多形について検討を行った。その結果、回分式の間接冷却晶析装置の基礎的な装置の試作が出来たと同時に、既報告同様に、アスペクト比の経時変化および結晶形状の顕微鏡観察により、目的物である L-グルタミン酸の α 型結晶は晶析開始直後にのみ析出し、その後時間経過と共に β 型へ変換していくことが確認できた。今後、この装置をベースに別物質の晶析手法について装置の改良や条件設定などの検討を試みる。

参考文献

- 1) 久保田徳昭：晶析工学，pp.4-5，東京電機大学出版局 (2016)
- 2) 三上貴司：晶析操作による結晶品質制御，鶴岡高専研究紀要，No.45, pp. 65-73 (2010)
- 3) 分離技術会編：工業晶析操作，(a) pp. 171-172,