

生物化学工学の諸問題

大阪大学工学部 田口久治
 醸酵工学科

1930年代の醸酵工学の分野は化学工業の数少ないプロセスの一端を担う以外に僅かに食品、飲料の製造技術に限定されていた感がある。しかも慣例とか因襲がこれらの工業を支配する最上のものであり新しい技術は単なる縁どりの役割しか演じていなかった。しかし戦後本邦の醸酵工業が抗生物質の出現によつて急速に発展したごとく世界的に1940年以降の醸酵工業は抗生物質工業のブームと共に急変した。すなわちそれ以前の醸酵工業は大部分経験的技術、知識に依存していたのであるが、正確な条件のもとで大きなスケールでプロセスを進行せしめる必要のために、工程に応じた機械、装置の選定とそれらの合理的な運営などの実施面と更に企画、設計に当つての基礎的研究など理論的根拠に基づいた醸酵技術の確立に多方面からの努力が払われるに到つた。生化学者、微生物学者と技術者と共に化学工学関係の人々々が密接な提携をもち初めたのもこの時期である。

化学工学の一部門として生物化学工学 (Biochemical Engineering) なる言葉が用いられるようになったのは1947年5月の *Chemical Engineering* 誌上におけるのが最初である。そして当初は生物化学工学を化学工学に属するテーマの一つの変形として解釈する人が多かつた。勿論上述の醸酵工業の進展に伴う醸酵工学技術の向上に化学工学が貢献したことは偏く知られているところである。しかしこれらの人々は少くとも醸酵工業の根底に存在する「life」の事実を理解していなかつたようである。すなわち化学工学で取扱う現象または範囲は多岐かつ広範にわたつていてもその原理の追究には物理化学的あるいは応用物理的に解析するものが多い。一方において醸酵工学はすべて微生物を対象としている点か他の化学工業のそれと著しい差がある。たとえば各種の抗生物質の生産に用いられるタンク培養では、使用する培養基はもとより運転中に送られる空気も殺菌されるように目的とする菌以外は完全無菌状態が必須条件であり、一般の化学反応槽の場合と異なっている。換言すれば流動、伝熱あるいは計装など化学工学の分野で一般に取扱われたものに加えて対象が微生物であるがために特にあらたに研究し開発しなければならない操作および装置があることが認められたとも言える。かように醸酵工業において機械工学、化学工学あるいは微生物化学、生化学など諸科学との境界領域に横たわる数多くの困難な問題

を解明し、各プロセスを如何に合理的に進行せしめるかを検討し、工業生産に移す際の経済的操作、装置についての課題を具体的に論議することを目的とする学問として独立したのが生物化学工学である。

さて醸酵工業における抗生物質のブームの後に石油化学工業の世界的規模による目覚ましい発展によつて、低級な炭素化合物は廃ガスから安価に供給されるに至り一時的ではあるが、この工業には明白な縮少が起こつた。しかし、これらの化学工業の進展に刺戟されて醸酵工業は飲料用アルコール類は別として、新しいアミノ酸、有機酸、glucose の polymer である dextran など微生物の代謝によつてより複雑な有用物質とか酵素を生成せしめる製造工業として発展しつつあり、最近の澱粉糖化酵素、纖維素分解酵素、イノシン酸製造等を含めてその規模は益々大きくなつてきている。1940年初期からこの分野を通じて拡大した最初の波動は医薬の製造面にのみ限られていたのに反し新しいこれらの傾向は広い対象に基礎をもつたもので抗生物質の時代とはおのずから違つた意味で生物化学工学に対する開発が要請されるに至つた。更に醸酵工業が今後進展するための研究課題を参考のために列記すると次のごときものがある。

- 1) 通常の化学合成に関与する特殊の転換を微生物の代謝に依存しようとするもの。
- 2) 微生物および酵素を石油精製過程中の廃物に作用させること。
- 3) 生化学反応および生物系を無機化学過程、たとえば金属の分離、精練または窒素固定に応用すること。

生物化学工学は米国においては1957年の春 Manchester College of Science and Technology の化学工学のコースを終えた修士の学生にその講義がはじめて行なわれ、1959年の初頭からは米英両国の生物化学者と化学工学者が編集委員となつて生物化学工学の専門誌 (*J. Biochemical and Microbiological and Technology and Engineering*; 1962年からは *Biotechnology and Bioengineering* と改名) が発刊されたに過ぎず、従つて多方面からの研究が発表されたにも拘らず学問としての体系が整備し初めて未だ日が浅く、本邦においても1960年から京大合葉氏が世話役となり生物化学工学研究会が組織され何回かの会合があり、またこの研究会と日本醸酵工学会との協催で昨年と本年の2回にわたつて“生物化学工学に関する諸問題”の標題でシンポジウムが阪大に

において開催された状態で僅かに揺籃時代の域を脱した程度である。生物化学工学が発生した歴史的な背景は上述の如きものであり、化学工学が応用化学の分野から誕生した歴史と共通点を有している。生物化学工学的な接近は醗酵の分野で最も広く応用されているものであるが生物化学工学の基礎となるものは物理学、化学、物理化学、数学等の基礎科学とともに微生物学、醗酵生理学および遺伝学などである。前者は数物系、後者はいわゆる生物系統の自然科学である。従来はややもすれば生物学的あるいは化学的な考え方のみに偏っていた醗酵工業のプロセスに物理学的な考察を加えることになったのが生物化学工学の姿ともいうことが出来る。このように広い基礎の上に立つべき生物化学工学は関係者が両者のうちいづれの基礎に立つかによって研究の進め方に見掛け上かなり異なった色彩を帯びるように考えられる。たとえば生物化学工学が関与する醗酵においては微生物を一種の触媒と考える場合に、この触媒は非常に強力なものである。一寸した培養条件を変更するとか遺伝的な因子を考慮して菌株を改良すれば直ちに目的とする生産物の収率が上昇する場合が屢々あり、従って工学的な技術が導入される余地がないと考えられることがある。微生物学、生物化学の側はややもすれば研究室において菌株を改良し、基礎的に試験管、フラスコ等で工業的培養条件の改良を行なうのが技術の活動範囲と考える狭い視野に入ってしまう。しかし研究室の結果をスケールアップして実際にその活性を発揮せしめるにはどうしても設備、化学工学といった要素を導入せねば充分でないことが他方において認識されて来ている。現在これ等2つの基礎の違つた研究方向が互の共通点に近づくための努力を払つて生物化学工学の体系を築きつつある。しかも従来のプロセスをより合理化すると共に複雑かつ高価な新物質の生産を最も合理的に量産するために生物化学工学の処理すべき問題は蓄積している。

筆者も生物化学工学の分野で研究し初めてから日が浅く潜越ではあるが生物化学工学において最も重要と考えられる二三の問題について解説させて頂く。

1. 醗酵におけるプロセスデザイン

Warner等は醗酵を工学的見地から討論して生化学者、微生物学者の主要な役割は醗酵プロセスの基礎因子—微生物、基質、プロセスの条件—を確立することであり、プロセスの効率を最大にし操作を経済的にまた信頼度を高く進行せしめるための技術者の貢献は2次的ではあるが必須のものであるともいつている。また Gaden は醗酵のプロセスを他の化学的プロセスに普通使用されている術語と同じ術語で解析し、プロセス設計の基本的考察であるエネルギー論、速度論、平衡等が醗酵にも適用で

きるが屢々面倒な問題が起きることを報告している。生物化学工学が醗酵の分野に生じて未だ20年に満たないが化学系の技術者は常に醗酵の工業的操作に従事してきている。然し1940年以前の彼等の役割は装置の設計と純然たる機械面の操作に限られていた。プロセスデザインはほとんど彼等の関心をひかず主として微生物学、生化学の関係人によつて扱われていた。どのような化学プロセスに対しても考察のキーポイントは次の3つと考えられる。すなわち a) 基礎となる反応系、b) 物理的な条件範囲、c) 惹起する化学変化である。醗酵のプロセスにもこれらの問題は重要であり、生物化学工学に関与するものは醗酵の反応系自身の特殊性を十分に理解しなければならない。

たとえば化学工学における気相触媒転化反応では、反応系および条件が種々考えられ固定層、流動層、温度の高低、圧力の範囲、流速等が考えられる。一方醗酵においてはその選択は非常に相違しており、ある管理方法ではきびしく制限され、また他の面では制限が全然ないのである。すなわち

i) 反応型式：近代の通気培養のほとんどすべてが簡単な反応槽型を採用している。攪拌(邪魔板附設)と翼下方からの通気を併なつたものである。勿論他の型に限定された例もあり、固定型が造酢用のゼネレーター、trickling filter として用いられ、連続培地殺菌等には管状反応器が使用されている。

ii) 物理的要因：温度は狭い範囲に限られており、攪拌の強度(機械的攪拌と通気による撻拌の両者を含む)は好気培養における第一次的物理変数である。醗酵液の流動性たとえば粘度、密度、表面張力等は攪拌動力、通気量、攪拌装置設計等と同様にこの攪拌強度を決定する。通常圧力も余り高いものは採用されず、したがつて醗酵の反応には大した影響をもたないと考えられている。

iii) 化学的要因：醗酵培地は通常複雑な組成を有している。したがつて他の化学プロセスと同様な考えに基づいて化学変化を検討するのは困難である。これには2つの基本的因子が認められている。細胞と基質の反応開始時における基質の組成と、次は反応中における栄養基質、プレカーサー、酸素等の補給である。ある種の醗酵ではこの化学的変化たとえば glucose の変化影響などは広く理解されているにもかかわらず多数の他の栄養基質の変化についてはほとんど知られていない。

醗酵プロセスの発達は実験によつて最高生産性を持ち最適経済的な微生物と培地との組合せを探知すること、大容量の装置で細胞と培地の反応に対する最良の再現性を確立することである。総合的なプロセス体系(フローシート)と反応槽型式(醗酵タンク)は実際には種々の醗酵においてほとんど同じであり、タンク内の状

態が変化しているだけである。もちろん設計の詳細な面とか培養管理方法は相違していても採用された反応型式自身は同じであると言いうる。容量を大にすることは同じ type の単位タンクを重複せしめることによつてえられ、完全に新しいプロセス体系を用いるというような発展は生じない。したがって醸酵プロセスのこのような特異性は、化学工学技術者の通常の活動である新しいプロセスや装置の設計などを可成り制限している。生物化学工学が醸酵工学に寄与したものは種々の相違した面

においてみられるが、この性格的な醸酵プロセスの主な段階は次のように分類される。a) 培地調整と殺菌、b) 接種菌の調整、c) 反応(醸酵)、d) 回収に対する前処理(分解、濾過等)。

そしてこれらのプロセスの基礎となる単位操作は培地の殺菌、流体の無菌的輸送、物質移動(通気)等である。

第1表はプロセス設計に対する新しい研究を紹介する前に生物化学工学における現在までの主な研究課題を単位プロセスに従つて分けたものである。

第 1 表

単位操作	研究課題と主な研究者	日 的
培地殺菌	回分式殺菌の計算法 (Deindoerfer ¹⁾ 1957) 連続殺菌に使用する装置 a) 滞留管式 b) 板状熱交換器 (Pfeifer and Vojnovick ²⁾ 1952, White-marsh ³⁾ 1954)	回分式殺菌のスケールアップに対する改良 a) 均一な培地を供給するための改良 b) 醸酵タンクの準備に要する時間節減 c) 操作能力の向上
空気殺菌	繊維状濾過装置の効率に影響する因子 (Terjense and Cherry ⁴⁾ 1947, Decker ⁵⁾ 1954, Humphrey and Gaden ⁶⁾ 1955) 繊維状濾過装置の設計と試験 空気の熱殺菌 (Stark and Pohlen ⁷⁾ 1950) 新しい濾材による空気濾過 (合葉 ⁸⁾ 1962)	a) 空気濾過の作用機構の解明 b) 空気濾過に対する比例的設計法 濾過通路を減少したりまたは第一次的殺菌に利用濾過層の寿命延長
プロセス設計	醸酵プロセスの速度論 (Gaden ⁹⁾ 1955, Luedeking and Piret ¹⁰⁾ 1959) ペニシリン醸酵プロセスの速度論 (Stefaniak ¹¹⁾ 1946, Brown and Peterson ¹²⁾ 1950, Calam ¹³⁾ 1951, Hosler and Johnson ¹⁴⁾ 1953, Owens and Johnson ¹⁵⁾ 1955) 菌令に関する数学模型 (Ping Shu ¹⁶⁾ 1962) 連続菌体生産に関する理論 (Herbert ¹⁷⁾ 1959) 連続多段培養 (Bartlett and Gerhardt ¹⁸⁾ 1959, Sikyta ¹⁹⁾ 1959) ノボビオシンの連続生産 (Reuser ²⁰⁾ 1961)	バッチプロセスの速度論的關係の決定 ペニシリンの生合成速度におよぼすプロセス変数の効果試験 菌令と生産物蓄積との数学的解析とその応用 定常状態における菌発育の連続化設計 発育相と生産相とを分別した型式の連続醸酵に対する設計 連続醸酵における物質分布と菌変異に対する防禦法
通気・攪拌	酸素吸込に関する測定法 a) 亜硫酸ソーダ法 (Cooper et al ²¹⁾ 1944, Schutz and Gaden ²²⁾ 1956, Philips and Johnson ²³⁾ 1959) b) ポーラログラフ法 (Hixson and Gaden ²⁴⁾ 1950, Wise ²⁵⁾ 1951, Batholomew ²⁶⁾ 1950, Chain and Gualandi ²⁷⁾ 1954) 遂行試験 (Chain et al ²⁸⁾ 1952, Friedman and Light foot ²⁹⁾ 1957, Elsworth et al ³⁰⁾ 1957) 醸酵生産における通気試験 (Basthomew et al ³¹⁾ 1950, Karrow ³²⁾ 1953, Maxon and Jphnson ³³⁾ 1953, 田口, 佐藤 ³⁴⁾ 1960) 微生物の対酸素挙動の解析 (照井, 金野 ³⁵⁾ 1960)	a) 操作変数(通気速度, 攪拌速度, 流体の性質)が酸素吸収に与える影響 b) 通気・攪拌型式の比較 生産性に対する通気攪拌の影響 溶存酸素量が生産に与える影響と酸素適応速度の解析

	醗酵液のレオロジー的研究と其の応用 (Deindoerfer ³⁶)1960, 佐藤 ³⁷)1961, 山田 ³⁸)1960)	醗酵液の物性の解明とその通気攪拌におよぼす影響
細胞と流体の分離	遠心分離の研究 (Ambler ³⁹) 1959, Partrick and Freeman ⁴⁰) 1959) 細胞のフローテーション (Bayles and Lincoln ⁴¹) 1958, Guadir et al ⁴²) 1960) 微生物の沈降 (合葉 ⁴³) 1961)	遠心分離のスケールアップに対する理論進展 新技術開発 沈降による菌体分離と醗酵液の物性解明

プロセス設計の基礎となる微生物の増殖の様相は微生物全般に發育遅延期(過応期)を経て対数的に増殖する対数發育期に到り更に發育定常期, 減衰期の後外部の栄養源が不足し初めると自己消化をおこし死滅期に入りその一週を終える。また菌の發育と目的とする生産物の生成, 蓄積速度との間の關聯性を Gaden は次のように三大別している。もちろんこれらの關係は培養条件, 微量物質の存在の変化によつて変動するものであるが標準關係は次の如き(第1図)ものである。

かように微生物の發育はいくつかの相に分けられ, プロセスの進展は屢々發育菌体の相に關連して討議されて來ているが個々の細胞の生理学的 age(菌令)の問題については充分な注意が払われていながつた。ある一定の環境においては個々の細胞はその細胞内物質の経過時間にしたがつた速度で生産物を生成するものである。このことについては Pig Shu が興味ある報告を行なつてゐる。すなわち彼は一つの培養プロセスにおける生理的な状態はその培養液中に存在する個々の細胞の生理的狀態の統計学的表現であると考えた。したがつて細胞による生産物形成の基礎關係が定量的な形で示しうるものであれば細胞年齢の分布から總括的な生産物蓄積が決定される。しかし培養中の個々の細胞の挙動を実験的に探究することは現在の技術段階では不可能である。そこで細胞による生産物形成の数学模型を考案し, 種々の培養結果にこれを応用している。生産物蓄積の瞬間的な速度は

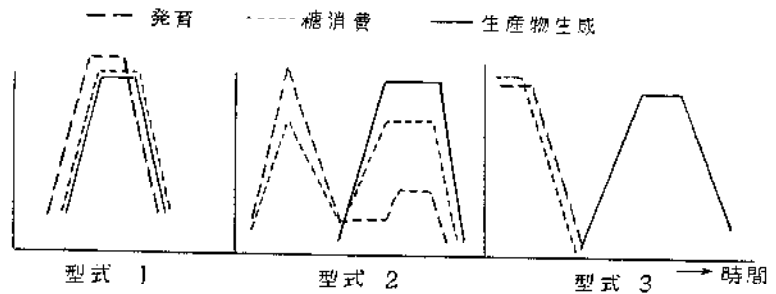
$$r_p = \frac{dP}{d\theta} = \sum_i A_i e^{-k_i \theta} \dots\dots(1)$$

但し A_i, k_i は微生物の種類と環境によつて決定される常数, θ は細胞の年齢とする。次に細胞の単位重量によつてその寿命 θ の間に生産される生成量 P_θ は

$$P_\theta = \int_0^\theta \sum_i A_i e^{-k_i \theta} d\theta \dots\dots(2)$$

この細胞 age の分布が一つの培養プロセスから t 時間の間にあるとし cell age θ の濃度が函数 $C(\theta)$ で表現されるとすると培養中の cell 濃度

$$C_t = \int_0^t C(\theta) d\theta \dots\dots(3)$$



第1図 菌体發育速度と生産物生成速度との關係

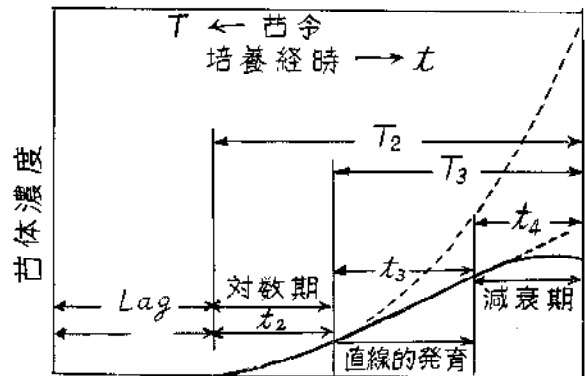
したがつて容器中の全生産物質濃度 (age θ から t を含む) P は

$$P = \int_0^t C(\theta) \int_0^\theta \sum_i A_i e^{-k_i \theta} d\theta d\theta \dots\dots(4)$$

で示される。そして一般模型として $r_p = A_1 e^{-k_1 \theta} - A_2 C \cdot k_2 \theta - A_3 \cdot k_3 \theta \dots\dots(5)$ を提示している。

第2図に示す如き發育状況を示す菌の對数期, 直線期, 減衰期の夫々の發育速度 (R_1) を $\alpha C_0 e^{\alpha t}$, $R_2 \beta C_t e^{-\beta(t-\theta)}$ で示すと生産物蓄積の一般式は

$$P = \int_0^{T_2} \alpha C_0 e^{\alpha(T_2-\theta)} \int_0^\theta \sum_i A_i e^{-k_i \theta} d\theta d\theta + \int_0^{(T_2-t_2)} \alpha C_0 e^{\alpha(T_2-\theta)} \int_0^\theta \sum_i A_i e^{-k_i \theta} d\theta d\theta + \int_0^{T_3} R \int_0^\theta A_i e^{-k_i \theta} d\theta d\theta - \int_0^{(T_3-t_3)} R \int_0^\theta \sum_i A_i e^{-k_i \theta} d\theta d\theta - \int_0^{t_4} \beta C_t e^{-\beta(t-\theta)} \int_0^\theta \sum_i A_i e^{-k_i \theta} d\theta d\theta \dots\dots(6)$$



第2図 バッチ培養における菌發育

で示される。これ等の關係は簡単な酵母による lysine 生成からやや複雑なクエン酸, ペニシリン醗酵に到るま

実験的にも証明された。かように菌令を醗酵過程の解析方法の中に含めることはもはや必須の段階に到達している。

2. 醗酵タンクの scale-up

化学工学と同様生物化学工学の部門においても scale-up の問題は最も多くの関心を集めている事項である。最近この scale-up という概念は極めて広義に用いられるようになり、それは次の3段階に分別されている。第1段階は広義に解釈される場合で、新事実の発見とか新研究の成果を新技術、新製品にまで開発してゆくという scale-up でこれらは化学工業の総論的な要素が大部分を占めることになる。第2段階はやや狭義のもので、プロセス設計とかプロセス技術といわれているものが主体である。従来プロセスの創案というものが個人の創意とか経験から出来上つたものであるとすると、前者は別としても後者の経験に基ずく要素は学問的に体系化する必要がある。工学的な体系化が完成すれば現在のプロセスの改良とか pilot plant の建設は極めて合理的にしかも容易になつてくる筈である。第3段階は前述の狭義の scale-up の概念と全く等しく、すでにプロセスは決定しており、ただその装置を大きくしてゆくという場合であつて第2段階のものが単位プロセスに対する scale-up と考えるとこれは単位操作に対する scale-up と考えることが出来る。すなわち第2及び第3段階のスケールアップを解明することが広義の scale-up の工学的体系化を完成させることになるのは論を俟たない。近時規模の影響を支配する因子を3種に分類して検討するようになって来た。その第1は装置に関する因子で幾何学的因子と呼ばれその2は単位操作に関する無次元群の因子で化学工学的因子、その3は反応自体に関する因子で化学的因子と呼ばれているものであり、醗酵工学においてはこれを醗酵学的因子といつてもよいわけである。従来この因子はそれぞれの醗酵に特異なものとして採り上げられることが多く、従つてその究明も不充分であつたことは否定出来ない。上記3因子をそれぞれ等しくするか若しくは相似律に従わせることが必要であるが、同時に等しくまたは相似にすることが困難であることは醗酵工業において屢々経験することであり、ここに scale-up に対する研究の重要性が存することとなる。醗酵工業において最も問題となるのは醗酵タンクの scale-up でありこの解明に対する基礎について Ruston⁽⁴⁾ は相似律によつて反応系を特性づける種々の無次元項の相関性を確立する必要があることを述べている。典型的な例は攪拌されているタンク中で必要動力に対する相関である。すなわち動力数 (N_p)、レイノルズ数 (Re)、フルード数 (Fr) の間に次の関係式を提示した。

$$N_p = k(Re)^m(Fr)^n \dots (7)$$

k, m, n 等は種類の異つた攪拌タンクにより決定されるものである。更に Ruston⁽⁴⁾ は熟あるいは物質移動速度の如きいわゆる "Process result" をもつて scale-up する方法を提案した。Process result を ϕ で表わし N_{Re} の函数として示した。

$$\phi = kN_{Re}^x \dots (8)$$

x は小規模のタンク実験で得られるもので次の関係式により scale-up に用いることが出来る。

$$N_2 = N_1(D_1/D_2)^{(2x-1)/x} \dots (9)$$

$$P_2 = P_1(D_2/D_1)^{5-8(2x-1)/x} \dots (10)$$

ただし N_1, N_2 : それぞれの規模における攪拌回転数
 P_1, P_2 : おなじく両者の単位容積当りの所要動力。

この場合動力比 P_2/P_1 は $x = 0.75$ の時のみ等しい関係が成立するものである。それ故 ϕ と x との関係を検討することなしに単位容積当りに導入される動力を等しいと考へて従来からタンクの scale-up が行なわれていることの欠点を指示している。その後 Rushton は装置の scale-up はその流動系に対して動的類似性が適用されている時のみ可能であると述べており、その動的類似性として流体運動、装置の形状、流体の性状等を挙げている。幾何学的に相似な装置であつても、液量の増加によつて物理的現象がすべて等しくならないことは注目すべきであり、われわれが通気速度を表示するのに容積比または線速度で示す場合のそれぞれの欠点などは身近かな一例である。

次に好氣的な培養における通気攪拌に対する scale-up であるがこれに関しては Bartholomew がペニシリン、ストレプトマイシンの生産について酸素移動の面より研究を行なつて以来数多くの報告が見られ、同じ対象の醗酵についても異つた結論が発表されていることが屢々見受けられる。Karrow 等は最も普通に採用されて来た scale-up の方法に対して基礎となる次の3つの前提を置いている。

- i) 抗生物質の収率は菌体に供給される酸素量によつて決定される。
- ii) 酸素供給速度は規模と攪拌の強さによつて決定される。

iii) 培養液に溶解する酸素の量が絶対的因子であり菌体懸垂培地における酸素移動は問題でない。

そして彼等は大きさあるいは形状の異つた醗酵タンクにおいても酸素溶解速度恒数を等しくすれば同一の醗酵成績がえられる筈であるという前提のもとで合理的な scale-up が可能であると述べている。Wise も抗生物質生産と酸素溶解速度恒数との相関性を基礎にして scale-up の可能なことを報告しているが、Gaden 等は上述の考え方は醗酵の分野の scale-up には全面的に適用し難いと述べ、理由として "生産物の生成は酸素供給速度に支配される" という仮定に問題があると述べている。彼は酵母、細菌の好氣的な増殖、あるいは酸化によつて結か

ら有機酸を生成せしめるような簡単な醗酵の場合にはこの前提はそのままで適用出来るが抗生物質生産等の場合には不十分としている。Finn⁴⁶⁾も多くの種類の菌の培養における scale-up について検討してこの考え方が普遍的でないことを述べている。

以上のように醗酵タンクの scale-up の方式には多くの異なった論説があるがそれらの妥当性には数々の疑問が残っている。すなわち普遍化し難い多くの動的要因が介在しておりこれらの要因のうちで醗酵液の物性が最大のものであり、この中には未解決の問題が余りにも多い。たとえば醗酵液中の菌の発育にしたがって粘性が大になれば酸素溶解速度係数が低下し、また消泡剤の添加によつてもその濃度によつては酸素溶解速度が減少することなどは観察的には現象が知られているが理論的な究明は少なく、勿論 scale-up への適用も行なわれていない。攪拌動力においても通気タンク中では液体、気体、固体の三相が共存している以上、醗酵液の比重とか粘度を正

に測定する技術がなければ飽迄見掛けの結果しかえられず scale-up が不正確な原因となつている。粘性の問題については Deindoerfer が種々の培養液についてレオロジー的解析を行ない放射線、微などは非ニュートン体の流動性をもつことを示し、同一菌株の培養液でもその粘性は培養期間の間に plastic 体または pseudo plastic 体に変化することを報告している。上述のごとく物質移動に醗酵液のレオロジー的挙動は著しい影響をもつものであり、その一例として Calderbank⁴⁷⁾ 等は非ニュートン流体の攪拌においてはニュートン体の N_R の代わりに流動指数 n 、consistency index K を導入し

$$\frac{D^2 N^{2-n} \rho}{K} \left(\frac{n}{6n-2} \right)^n$$

を使用する方が攪拌動力との相関性があることを報告している。

これら物件の解明は物質移動の要因を究明し、更に醗酵タンクの scale-up に今後貢献するであろう。

3. 連続醗酵

連続醗酵は生物化学工学で取扱うプロセス設計のうちの重要な課題となつている。特に酵母菌体を製造するような簡単な管理で目的を達する醗酵工業、たとえば亜硫酸パルプ廃液から飼料酵母を製造する場合などは単一の醗酵タンクで連続培養を行なうことが可能であり、このようなプロセスに対しては Monod⁴⁸⁾、Herbert の理論を初め多くの論説が発表されており実際の操作とも密接に関連した成果を挙げている。そのプロセス設計はバッチにおける速度関係の実験データから十分に検討することが出来ている。しかしその他の数多くの生産物を目的とする醗酵においては菌体増殖の速度と生産物生成の速度との関係が量的にも時期的にも比例的でなく従つてそ

れぞれの相に分けて追究しなければならない。いわゆる多段連続培養のプロセス設計は単一醗酵槽の場合に比しその解明に困難な問題を包含している。本年チエッコスロバキヤで開催された第4回の連続醗酵に関する国際シンポジウムにおいても主として多段連続培養に関する問題が討議されている。多段連続培養を設計し操作するには先づ発育相、生産相並びにその中間に存在するであろう生産誘導期におけるそれぞれの培養特性を把握する必要がある。すなわち培養基の組成、稼動条件(通気、攪拌、PH、温度等)の最適なものを別けて決定すると共に連続化のための各タンクのサークルタイムを決定することが肝要である。しかし連続培養の操作基準は飽迄各タンクが定常状態を維持することと生産性を高揚したタンクの利用率を高めることにあるので、これらの諸点の解決の前には菌令の分布に関する問題、変異株の発生、汚染菌による妨害等数々の難問題が横たわつている。Ping Shu は前述の菌令を考慮に入れた解析を連続培養についても行ない、第 n 番目のタンクの生産物濃度を示す式を与えている。

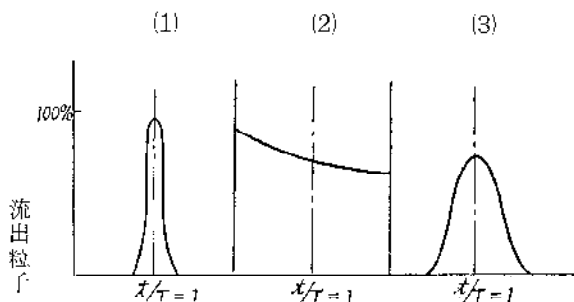
$$P_n = \int_0^\infty C_n(\theta) \int_0^\theta \sum_i A_i e^{-k_i \theta} d\theta d\theta \dots \dots (11)$$

ただし $C_n(\theta)$ は第 n 番目のタンク内における菌令 θ の細胞濃度を示している。F を培地移動速度、V をタンク内液量とすると

$$C_n(\theta) = \left\{ R_n + R_{n-1} \left(\frac{F\theta}{V} \right) + \frac{R_{n-2}}{2!} \left(\frac{F\theta}{V} \right)^2 \dots \dots + \frac{R_1}{(n-1)!} \left(\frac{F\theta}{V} \right)^{n-1} \right\} e^{-F\theta/V} \dots \dots (12)$$

で与えられるものである。

また Reuser は連続培養に使用するタンクの形状に依つて流動中の粒子(菌体、または生産物とも考えられる)の分布を測定し、これらがタンク内に滞留する時間の分布が異なることを報告している。第3図(1)は理想的なピストン流動を示すタンク内の実際の滞留時間(t)と操作条件の滞留時間(T)との比の分布を描いたもので(2)は通常の攪拌を行なつている連続培養タンク内の分布(3)はピストン流動を示すように考案されたタンクで一番構造の簡単な場合は Wald hof 型のタンクである。したがつて多段連続培養の設計には出来るだけピストン流動に近い構造のタンクを使用すべきである。



第3図 滞留時間の分布

また菌株の変異に対しては実際面の考案として、Novobiocin の連続生産において Reuser は種タンク、発育相のタンクを2つ用意しておき時間の経過にしたがって切換える方法を示している。かように多段連続培養の基礎研究、実際操作の考案等は各方面から検討され次第にその実現の段階に進展しようとしている。

4. 其 の 他

生物化学工学が関与する分野は急速に展開しているが従来からの清酒、醤油醸造の部門においてもその機械化、管理の合理化が要望され、製麹、蒸煮、醗の炉過の各単位操作に対し鋭いメスが入れられその連続機械化の完成する日も真近くなっている。

更に活性汚泥法による都市下水および産業廃水処理の中にも生物化学工学の知識を導入しなければ解決し得ない問題がある。すなわち活性汚泥による処理は各種微生物の複雑な集合体とみなされる活性汚泥に空気を供給し微生物の増殖から死滅に至る間の代謝によつて汚水内の有機物を除去し B.O.D. を低下せしめようとするものである。ある意味ではこのプロセスは微生物の連続培養とも考えられるものであり、一時に処理する液量は通常の

醗酵タンクの場合に比し遙かに大であるが大気下で開放の操作であり一見して簡単なように見えるが、汚泥の活性を維持しつつ、効率のよい空気供給を行ない通気による運転費の節減を目的とする本研究にも複雑な問題が残っている。

その他化学工学において既に単一操作として理論とその応用が確立している伝熱、物質移動、乾燥、調湿、沈降、機械的分離、冷凍等の分野においてもこれらを直ちに醗酵工学の単一操作に適用するためには微生物、培養液の物性、製品の品質等に対する詳細な検討が必要であり、生物化学工学の活躍の場は非常に広大なものと考えられる。

最後に醗酵工学の進歩に対する鍵は、1)微生物の発育と生産物形成における生化学的機作、2)生化学反応を触媒する菌の能力に影響をもつ要因に対する解明にあることはもちろんだが、更に物理化学、数学等の応用物理系の知識の上に立つてこれらの醗酵プロセスを解析する生物化学工学の進展が必須であることを力説したい。しかもこの進展には機械工学、電気工学、化学工学関係の人々との密接な連繫が肝要なことは論をまたないのであり、これら分野の方々の深い理解をお願いして筆をおく。

参考文献

- 1) Deindoerfer, F.H. : Appl. Microbiol., **5**, 221 (1957)
- 2) Pfelfer., V.F. and Vonjovich, C. : Ind. Eng. Chem., **44**, 1940 (1952)
- 3) Whittmarsh, J.M. : J. Appl. Bacteriol., **17**, 27 (1954)
- 4) Terjesen, S.G. and Cherry, G.B. : Trans. Inst. Chem. Engrs. London, **25**, 305 (1947)
- 5) Decker, H.M. et al. : Heating Piping and Air Conditioning, **23**, 155 (1954)
- 6) Hunphrey, A.E. and Gaden : Ind. Eng. Chem., **42**, 924 (1955)
- 7) Stark, W.H. and Pohler, G.M. Ind. Eng. Chem., **42**, 1789 (1950)
- 8) 合業 ; 生物化学工学シンポジウム要旨集(1962)
- 9) Gaden, E.L. Jr. ; J. Biochem. Micro. Tech. and Eng., **1**, 413. (1959)
- 10) Leudeking, R. and Piret, E. ; ibid. **1**, 378 (1959)
- 11) Stefaniak, J.J. : J. Bacteriol., **52**, 119 (1946)
- 12) Brown, W.E. and Peterson, W.H. : Ind. Eng. Chem., **42**, 1769 (1950)
- 13) Calam, C.T. et al. : J. Appl. Chem., **1**, 209 (1951)
- 14) Hosler, p. and Gaden, E.L. Jr. : Ind. Eng. Chem., **45**, 871 (1953)
- 15) Owens, S.P. and Johnson, M.J. : Appl. Microbiol., **3**, 375 (1955)
- 16) Ping Shu ; J. Biochem. Micro. Tech. and Eng., **3**, 95 (1961)
- 17) Herbert, D. : Decent progress in microbiology p381 Edited by G. Tunevall (1959)
- 18) Bartlett, M.C. and Gerhardt, P.J. Biochem. Micro. Tech. and Eng., **1**, 165 (1959)
- 19) Sikyta, B et al : ibid., **1**, 209 (1959)
- 20) Reuser, E.M. : Appl. Micro., **9**, 436 (1961)
- 21) Cooper, C.M. et al. : Ind. Eng. Chem., **36**, 504 (1940)
- 22) Schultz, J.S. and Gaden, E.L. Jr. ; Ind. Eng. Chem., **48**, 2209 (1956)
- 23) Phillips, D.H. and Johnson, M.J. : Ind. Eng. Chem., **51**, 83 (1959)
- 24) Hixon, A.W. and Gaden, E.L. Jr. Ind. Eng. Chem., **42**, 1792 (1950)
- 25) Wise, W.S. : J. Gen. Microbiol., **5**, 167 (1951)
- 26) Batholomew, W.H. et al : Ind. Eng. Chem., **42**, 1801 (1950)
- 27) Chain, E. B. et al. : Bull. World Health Organisation, **6**, 73 (1952)

- 28) Chain, E.B. and Gualand, G. : Rend. ist. super. sanita., **17**, 5 (1954)
- 29) Friedman, A.M. and Lightfoot, E.N. : Ind. Eng. Chrm., **48**, 1227 (1957)
- 30) Elsworth, R et al : J. Appl. Chem., **7**, 261 (1957)
- 31) Bartholomew, W.E. et al : Ind. Eng. Chem., **42**, 1810 (1950)
- 32) Karrow, E.O., et al : Agr. Food. Chem., **1**, 302 (1953)
- 33) Maxon, W.D. and Johonson, M.J. : Ind. Eng. Chem., **45** 2554 (1953)
- 34) 山口, 佐藤等 : 大阪醸造学会第4回シンポジウム (1960)
- 35) 照井, 金野 : 醸酵工誌, **38**, 278, 321 (1960)
- 36) Deindoerfer., F.H. : J. Biochem. Micro. Tech. and Eng., **2**, 345 (1960)
- 37) 佐藤 : 醸酵工誌, **39**, 205 (1961)
- 38) 山田, 高橋 : 口農化, **34**, 100 (1960)
- 39) Ambler, CM. : J. Biochem. Micro. Tech. and Micro., **1**, 185 (1959)
- 40) Partrick, W.C. and Freeman, R.R. *ibid.*, **1**, 207 (1959)
- 41) Bayles, W. A. and Lincoln, S. E. : Appl. Microbiol., **6**, 327 (1958)
- 42) Gaudin, A.M. et al : *ibid.* **8**, 84 (1960)
- 43) 合葉 : 生物化学工学シンポジウム要旨集(1961)
- 44) Rushton, J.h. et al : *ibid.* **46**, 395, 467(1950)
- 45) Rushton, J.H. : Chem. Eng. Prog., **47**, 485 (1951)
- 46) Finn, R.K. ; Bacteriol. Revs., **18**, 254 (1954)
- 47) Calderbak, P.H. Trans. Insy. Chem. Engrs. london, **37**, 26 (1959)
- 48) Monod, J. Ann. inst. Wash., Publ No. 614.
- その他の引用文献
- 49) Gaden, E.L. Tr : Appl. Microbiol., **8**, 123 (1960)
- 50) Steel. R : Biochemical Engineering (1958)
- 51) 合葉 : 統新化学工学講座, 4, 醸酵