

# 醗酵工業における連続培養 (下)

大阪大学工学部 岡崎光雄

## Nongrowth-associated 型の 連続多段槽型培養

前報<sup>1)</sup>で詳述したように、連続槽型培養系において、目的産物が菌体そのものか、それが growth-associated<sup>2)3)</sup>型 (目的産物生成速度  $dP/dt$  と菌体増殖速度  $dX/dt$  とが比例する場合、すなわち  $dP/dt = Y dX/dt$ ,  $Y = \text{const.}$  の場合) の解析は比較的よくなされている。しかし目的産物が nongrowth-associated 型<sup>2)3)</sup> (目的産物の生成が菌体増殖に伴わず、むしろ多くの場合増殖期においてその生産は抑制され、増殖静止期においてその生産が行なわれる場合、すなわち牛の生育とその牛乳の生産など想像していただいたらよいと思う) の連続培養の解析についてはほとんどその報告をみない。

このような nongrowth-associated 型の生産を最大に発揮させるためには各相に異なった制御方式を適用し得る連続多段槽型培養がより良い培養系と考えられる。しかし前報でふれたように、前槽の菌体が後槽に流入した際、菌体はただちに後槽の菌体に変換するものでなく、前培養の性質を発現する lag 現象 (あるいは前培養の性質を持続する tailing 現象) を呈する。したがって、とくに nongrowth-associated 型の連続多段槽型培養においては、菌体の槽間移動の際における菌体の槽内滞留令とその生産活性の分布を当然考慮しなければならない<sup>4)</sup>。

ここでは一例として、黒カビ (アデニン要求性) による典型的な nongrowth-associated 型の糖化酵素生産の連続多段槽型培養を行ない、槽間移動における菌体の槽内滞留令とその生産活性分布について、2, 3 の理論的考察を述べ、実際の培養と比較してみよう<sup>5)6)7)</sup>。

### 槽間移動における滞留令——活性 分布の理論的考察

まず化学反応などを伴わない単純流動を考えてみよう。いま  $C_0=1$  の供給液を、希釈率  $D$ 、容積  $V$  を一定で、完全混合のもとに初濃度  $C_{\theta=0}=0$  の槽液に流入した場合、 $\theta$  時間流動後の槽液濃度  $C$  は、

$$C = 1 - e^{-D\theta} \equiv Y_D \quad (1)$$

で表わし得る。

つぎに、前槽から流入した菌体の呈する目的生産物の比生産率 (生産活性)  $\rho = Pd/X \cdot dt$  は、その槽中での滞留令  $\theta$  の関数であり、 $\rho = f(\theta)$  と表わし得る。簡単にするために、増殖を無視し、流入菌体単位濃度 ( $X=1$ ) 当りの滞留令零から  $\theta$  時間にわたる菌体の比総生産率 (総生産活性)  $G$  は

$$G = \int_0^{\theta} f(\theta) \left( \frac{dY_D}{d\theta} \right) d\theta = D \int_0^{\theta} f(\theta) e^{-D\theta} d\theta \quad (2)$$

ここで、 $Y_D$  は流入物質の滞留令——累積分布関数ともいふべきものである。いま  $f(\theta)$  の滞留令零のときの値を  $\rho_0$  とし、 $f(\theta) = \rho_0 + g(\theta)$  で表わせば、

$$G = \rho_0(1 - e^{-D\theta}) + D \int_0^{\theta} g(\theta) e^{-D\theta} d\theta \quad (3)$$

となる。

いま、生産活性の滞留令による変化を表わす  $g(\theta)$  が、槽間移動において滞留令とともに漸増し、ついに滞留令十分大なる菌体の生産活性と等しくなるような経過を生産活性の lag と呼び、また逆に槽間移動において、滞留令とともにその活性がしだいに低下し、滞留令十分大なる菌体のそれとともに等しくなるような経過を生産活性の tailing と呼ぶことにする。

[A] 生産活性  $\rho$  の滞留令による上昇経過がシグモイドとなり、一分子自触反応式により表現される場合、

この場合  $g(\theta)$  に対して一分子自触反応式を適用すると、

$$f(\theta) = \rho_0 + \frac{\rho_m - \rho_0}{1 + ae^{-k\theta}} \quad (4)$$

によって表わし得る。ただし  $k$  は自触反応速度定数に比例する値 (すなわち、自触反応速度式に表わされる速度定数に  $\rho_m$  を乗じた値) である。 $\rho_m$  は滞留令十分大なる場合の成熟菌体の生産活性を表わす。また一般に  $a$  は定数で 1 より大なる値である。したがって滞留令零から  $\theta$  にわたる総生産活性  $G$  を簡単にするため比増殖率  $\mu=0$  の条件で求めると、

$$\begin{aligned} G &= \rho_0(1 - e^{-D\theta}) + \int_0^{\theta} g(\theta) \left( \frac{dY_D}{d\theta} \right) d\theta \\ &= \rho_0(1 - e^{-D\theta}) + D(\rho_m - \rho_0) \int_0^{\theta} \frac{e^{-D\theta}}{1 + ae^{-k\theta}} d\theta \end{aligned} \quad (5)$$

また生産物濃度を  $P$  とすると,

$$\frac{dP}{d\theta} = (\rho_m e^{-D\theta} + G)X + D(P_0 - P) \quad (6)$$

となる。(5)式において  $P_0$  は供給液中の生産物濃度であり,  $P$  は任意槽中の生産物濃度である。また  $\rho_m e^{-D\theta} X$  は回分培養の  $\rho_m$  なる値を持つ時期から連続流動を開始した場合, 最初の十分に成熟した菌体の  $\theta$  時間後の生産速度を表わす。したがって, 定常状態においてはこれらはほとんど流出されて

$$G_{(\text{Steady})} = (P - P_0) \frac{D}{X} \quad (7)$$

となる。ただし  $G_{(\text{Steady})}$  は  $G$  を零から無限大までの積分に相当するものであり,

$$G_{(\text{Steady})} = \rho_0 + (\rho_m - \rho_0) I_k \quad (8)$$

ただし,

$$I_k = D \int_0^{\infty} \frac{e^{-D\theta}}{1 + a e^{-k\theta}} d\theta \quad (9)$$

であって,  $g(\theta)$  を相対的尺度で表現したもので, すなわち  $g(\theta)/(\rho_m - \rho_0)$  に  $dY_D/d\theta$  を乗じて, 零から無限大まで積分した値である。なお上式において  $I_k$  を近似計算するために次式を誘導した。

$$\begin{aligned} I_k &= D \int_0^{\infty} \frac{e^{-D\theta}}{1 + a e^{-k\theta}} d\theta = \frac{D}{k} \cdot a^{-\frac{D}{k}} \int_{\lambda(0)}^{\lambda(\infty)} \frac{\lambda^{-\frac{D}{k}}}{\lambda + 1} d\lambda \\ &= A \int_{\frac{1}{a}}^{\infty} F(\lambda) d\lambda \quad (9) \end{aligned}$$

$$\left( \lambda = \frac{1}{a} e^{k\theta}, \quad F(\lambda) = \frac{\lambda^{-\frac{D}{k}}}{\lambda + 1}, \quad A \equiv \frac{D}{k} a^{-\frac{D}{k}} \right)$$

ここで, 自触反応の本来の性質からして,  $1/a$  は 1 に比べて非常に小さな値であり,  $\theta$  すなわち  $\lambda$  が十分大なる場合  $1/a$  から無限大までの積分は, 零から無限大までの積分値とほぼ同一とみなしても, 實際上その誤差は問題にならないと考えられる。したがって

$$\begin{aligned} I_k &\approx A \int_0^{\infty} F(\lambda) d\lambda = A \Gamma\left(1 - \frac{D}{k}\right) \Gamma\left(\frac{D}{k}\right) \\ &= \frac{D}{k} a^{-\frac{D}{k}} \frac{\pi}{\sin\left(1 - \frac{D}{k}\right)\pi} \quad (10) \end{aligned}$$

$$\text{ただし, } \left(1 > 1 - \frac{D}{k} > 0\right)$$

この条件はまた実際的にも十分満足するものである。すなわち  $k$  は  $D$  より大なるのが普通であり, もし  $D$  と同程度または少し小さいならば lag 損失のため実用に耐えないことになる。

[B] 生産活性の滞留令による低下が逆シグモイド経過で減少し, 一分子自触反応式が適用される場合  
この場合も前と同様に,

$$f(\theta) = \rho'_m - \frac{\rho'_m - \rho_L}{1 + a' e^{-k'\theta}} \quad (11)$$

となる。ただし  $\rho'_m$  は実際の滞留令零の生産活性とほぼ同じであって, 数式に適合する計算上の値を適用するものとする。したがって滞留令零から  $\theta$  にわたる総生産活性  $G$  を前と同様に求めると ( $\mu=0$ ),

$$G = \rho'_m (1 - e^{-D\theta}) + D \int_0^{\theta} g(\theta) e^{-D\theta} d\theta \quad (12)$$

また生産物濃度変化は,

$$\frac{dP}{d\theta} = (\rho'_L e^{-D\theta} + G)X + D(P_0 - P) \quad (13)$$

ただし  $\rho'_L e^{-D\theta} X$  は  $\rho'_L$  なる活性を示すようになった回分培養から流動し始めた場合の  $\theta$  時間後の残存菌体による生産速度を表わす。定常状態では,

$$G_{(\text{Steady})} = \rho'_m - (\rho'_m - \rho'_L) I'_k \quad (14)$$

また,  $I'_k$  も前と同様にして求めることが出来る。すなわち,

$$\begin{aligned} I'_k &= \frac{D}{K_k} \cdot a^{-\frac{D}{k}} \cdot \frac{\pi}{\sin\left(1 - \frac{D}{k'}\right)\pi} \\ &\quad \left(\text{ただし } 1 > 1 - \frac{D}{k'} > 0\right) \quad (15) \end{aligned}$$

なお上式の成立条件, すなわち ( $1 < 1 - D/k' > 0$ ) は実際十分に満足すると考えられる。なぜならば  $D$  に等しいか, あるいはそれよりも小なる  $k'$  では tailing の結果,  $\rho'_m$  の前槽とほぼ等しいか, またはこれよりも大なる生産活性を示すことになり, このような場合はこの式が適用される熟成槽ではなくなる。

以上の他に生産活性  $\rho$  が滞留令に関して一分子的に増加する場合, あるいは, 一分子的に減少する場合などいろいろ考えられるが, これらの場合も上述と同様にして計算出来るので省略する。

### 黒カビ糖化酵素生産の連続多段階型培養

黒カビ (*Aspergillus niger* U20-2-5 [アデニン要求株]) の生産する糖化酵素は典型的な nongrowth-associated 型であり, 図 1 に示すように比増殖率 ( $\mu$ ) が高く力源代謝活性も旺盛であるが酵素生産は著しく低い増殖期と,  $\mu$  の急速な低下とともに酵素生産が活発になり,  $\mu$  が零になって比酵素生成率 ( $\epsilon = dE/Xdt$ , ここで  $E$ :

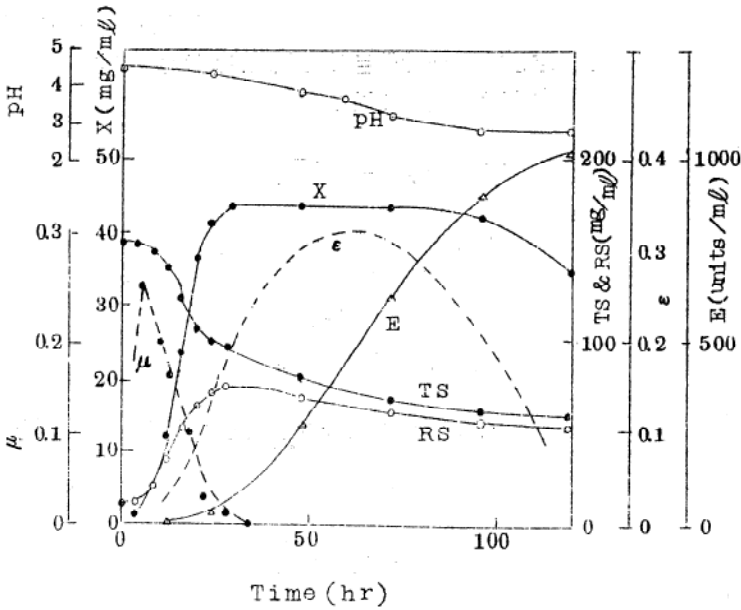


図1 回分培養経時変化

糖化酵素濃度)が最大となる2つの相に大別される。このようなプロセス型を連続多段槽型培養へ適用する場合増殖期を第1槽に、酵素生成期(最大比酵素生成率  $\epsilon_m = (dE/dt)_m$  の時期)を第2槽に対応せしめるようにし、第3槽を熟成槽とし、十分に高い酵素濃度(E)を得るように設計するのがよいと考えられる。この場合第1槽(増殖槽)においては、前報で述べたように、増殖制限基質(この場合アデニン)(S)と  $\mu$  との間には Monod の関係式すなわち、 $\mu = \mu_m S / (K + S)$  が成立し<sup>5)</sup>、また S と最大菌体増殖とは比例関係すなわち、 $dX/dt = Y \cdot dS/dt$ <sup>5)</sup>にあることより、第1槽においては Herbert らが報告<sup>8)9)10)</sup>している一般関係すなわち  $X_1 = Y(S_0 - S_1)$  および  $S_1 = KD_1 / (\mu_m - D_1)$  が成立する。しかし糖化酵素生産のような nongrowth-associated 型のプロセス設計には前報で述べた方法は増殖槽のみにしか適用

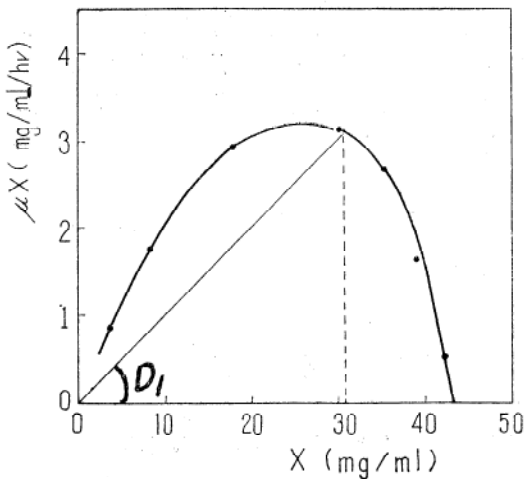


図2 増殖速度と菌体濃度の関係

出来ない。

そこで回分培養の経時変化を基にして、図解法<sup>11)12)13)</sup>により連続多段槽型培養系を設定する。第1槽はとくに菌体の増殖を基準とする設計であり図2に示すように回分培養の菌体濃度(X)と増殖速度( $dX/dt = \mu X$ )との関係を図示し、菌体生産速度を最高にするためには  $\mu X$  の最大値と原点(貯槽よりの菌体の流入なし)を結ぶ直線の勾配をもって連続培養の希釈率( $D_1$ )を推定するわけであるが、この場合目的生産物が nongrowth-associated 型の糖化酵素であり、 $\mu X$  の最高値では一般に菌体濃度が小さいばかりでなく、増殖有効物質もかなり残存し、第2槽に移行した際の酵素生産活性発現にも影響し、lag も大きくなることが懸念されるので、 $\mu X$  の最高値の時期をかなり過ぎ、菌体濃度がより高くなるように、 $D_1 = 0.1 \text{ hr}^{-1}$  ( $X_1 = 31 \text{ mg/l}$  ( $\mu_1 X_1 = 3.1 \text{ mg/ml/hr}$ )と設計した。

第2槽は高い酵素生産速度( $dE/dt = \epsilon X$ )の定常化を主眼とするもので、もはや菌体増殖曲線よりの推定は不可能であるので図3のごとく糖化酵素濃度(E)とその酵素生成速度( $dE/dt = \epsilon X$ )との関係から図解法により

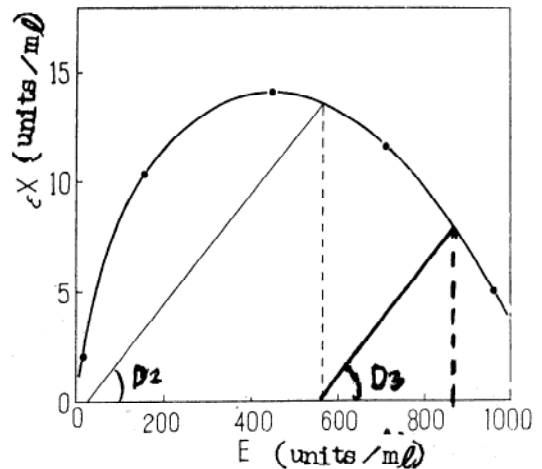


図3 酵素生産速度と酵素濃度の関係

第2槽の希釈率  $D_2$  として  $\epsilon X$  の最大値付近の設定点と第2槽に流入する培養物の酵素濃度( $E_1$ )を示す点と結ぶ直線の勾配より求める(すなわち  $D_2 = \epsilon_2 X_2 / (E_2 - E_1)$ )ただしこの実験では第3槽に期待する糖化酵素濃度( $E_3$ )も考慮してEの高い方向にずらし、 $D_2 = 0.025 \text{ hr}^{-1}$  ( $\epsilon_2 X_2 = 13.5 \text{ units/ml/hr}$ ,  $E_2 = 565 \text{ units/ml}$ )と設定した。

第3槽の希釈率  $D_3$  の計算は第2槽に準じ、この場合十分に高い酵素濃度  $E_3$  を得るように考慮して、 $D_3 = 0.025 \text{ hr}^{-1}$  ( $\epsilon_3 X_3 = 8.0 \text{ units/ml/hr}$ ,  $E_3 = 830 \text{ units/ml}$ )に定めた(図3参照)。

上記の推定により  $D_1=0.1$ ,  $D_2=0.025$  および  $D_3=0.025$  となるように, 供給液量  $F=400\text{ml/hr}$  にし, 第1槽の培養容積  $V_1=4\text{l}$  (5l ジャーフェーマンター使用), 第2槽および第3槽の培養容積  $V_2=V_3=16\text{l}$  (20l ジャーフェーマンター使用) に設定し, 連続多段槽型培養を行なった結果を次に示す。

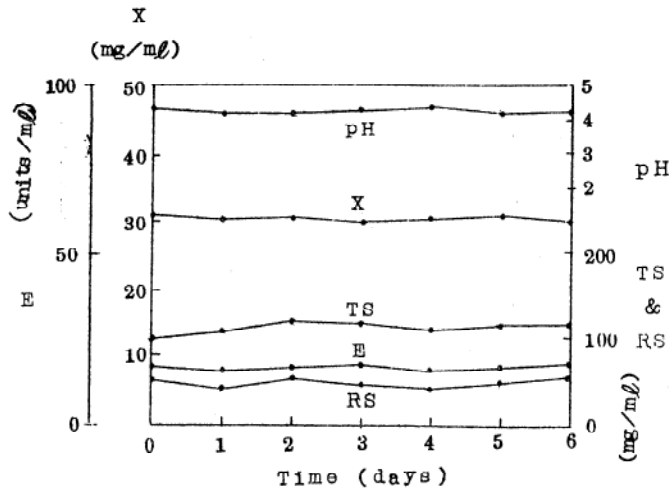


図4 連続培養経時変化 (第1槽)  
希釈率:  $D_1=0.1$

図4に第1槽(増殖槽)の経時変化を示す。第1槽の連続流動開始後 150hr で菌体濃度  $X_1=30\sim 31\text{mg/ml}$ , 酵素濃度  $E_1=17\sim 18\text{units/ml}$  ではほぼ定常状態を維持することが認められ, この値は前述の推定値とほぼ一致するものである。すなわち第1槽の環境条件はほぼ回分培養のある時期と一致するものであり, 回分培養を基にした図解法が適用出来る。

第2槽(酵素生産槽)の経時変化を図5に示す。

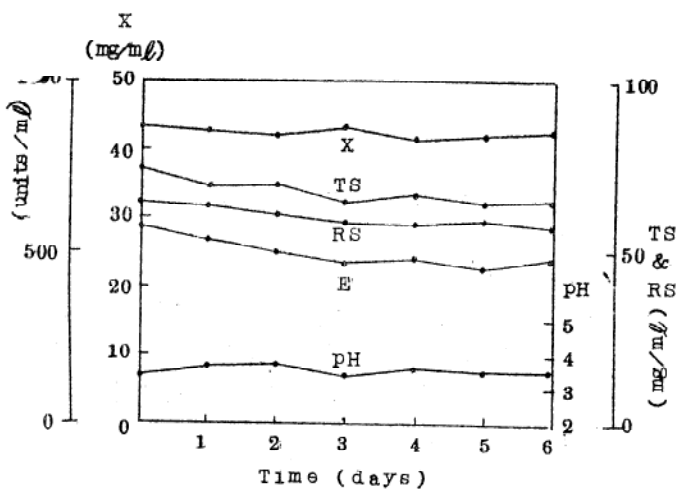


図5 連続培養経時変化 (第2槽)  
希釈率:  $D_2=0.025$

$D_2=0.025$  で流動を開始すると, 菌体量はほぼ  $X_2$

$=42\text{mg/ml}$  で一定であるが,  $E_2$  は当初  $570\text{units/ml}$  から徐々に低下して  $450\text{units/ml}$  となり, この水準ではほぼ定常状態に到達する。この場合見掛け上  $\epsilon_2 X_2=10.7$  となり前述の推定値13.5の約80%の値を示す。この差の起因については次節で解析する。

なお第3槽(熟成槽)については図6に示す。この場

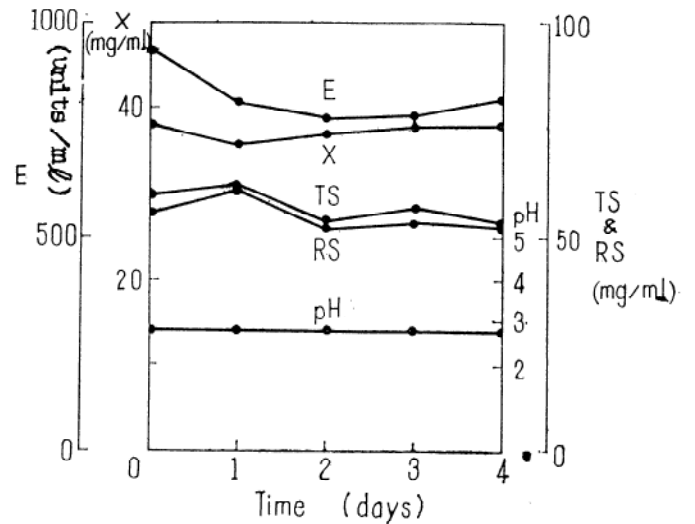


図6 連続培養経時変化 (第3槽)  
希釈率:  $D_3=0.025$

合も  $D_3=0.025$  で流動した場合, 菌体濃度が低下し, 多少 autolysis の傾向が認められるが, 酵素濃度  $D_3=800\text{units/ml}$  以上を示し, ほぼ所定の目標に達することがわかる。

以上の結果より, 回分培養をもとに図解法により推定した第2槽の酵素生産活性は実際の連続培養の定常値より上回っており, その起因は第1槽より第2槽に流入した菌体がただちに第2槽の  $\epsilon_m$  に応答することなしに, 一定の lag 現象を呈することによるものである。この lag の解析を次に示そう。

### 第1槽から第2槽への槽間移動における生産活性の lag と滞留令

第2槽の菌体の挙動を考えた場合, 第1槽より流入した菌体が第2槽の滞留令の十分大なる菌体と同様の生産活性を直ちに示すものではなく, かなりの lag を経てある滞留令に達したときに最大生産活性を示すものと考えられる。しかし図解法においては概観的に一定培養令に対応する反応速度は回分式と連続式とで等しいとの仮定に基づいている。したがって第1槽(増殖槽)のように増殖速度が増殖制限基質によってのみ支配されるような状態では成立するが, 第2槽のような場合には菌体の受ける shock や既存菌体活性の持続性などにもとづく lag

現象を考慮に入れなければならない。この lag 期間の活性上昇の過程を解析したのが図7である。第1槽菌体が

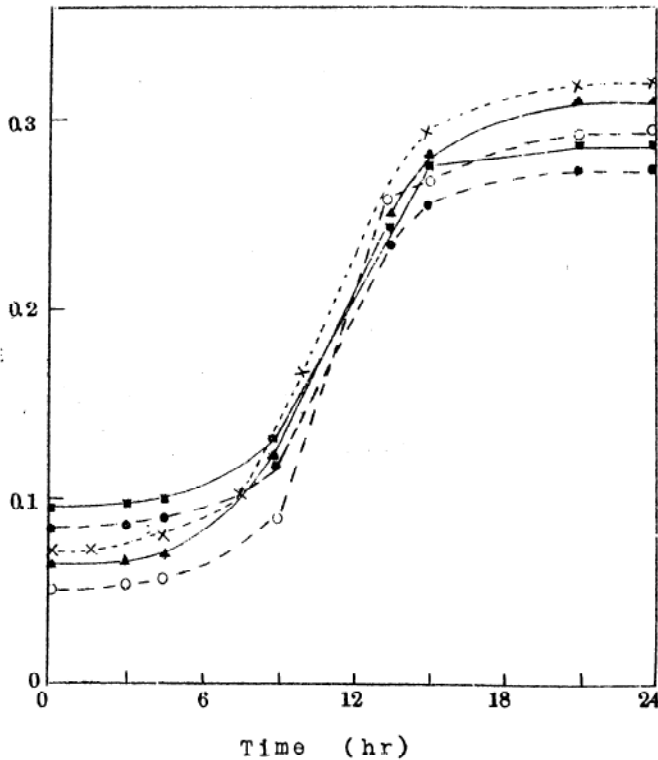


図7 第2槽培養液における第1槽菌体の酵素生産活性の変化

第2槽に流入した際、種々の実験においてもほぼ同様に、滞留令  $\theta$  と共に酵素生産活性  $\epsilon$  はシグモイド状に上昇することがわかる。なおこの場合の  $\epsilon_m$  値は回分培養の  $\epsilon$  の最大値とほぼ一致する。

このような  $\epsilon$  の上昇様相を解析するために図12の値を1分子自触反応式

$$\epsilon_{rel} = \frac{1}{1 + ae^{-k\theta}} \quad \left( \epsilon_{rel} = \frac{\epsilon - \epsilon_0}{\epsilon_m - \epsilon_0} \right) \quad (16)$$

$$\ln \frac{\epsilon_{rel}}{1 - \epsilon_{rel}} = k\theta - \ln a \quad (16')$$

にしたがってプロットすると図8のようにほぼ適合し、 $k=0.58$ ,  $a=715$  を得る。ただし  $\epsilon_{rel}$  は  $\epsilon$  の最大増加 ( $\epsilon_m - \epsilon_0$ ) の値を1とおいたときの時間後の ( $\epsilon - \epsilon_0$ ) の値である。

したがって、流動開始後  $\theta$  時間における流入菌体ならびに流動前の既存  $\epsilon_m$  菌体を包含する総括的比酵素生産率は(5)式より、

$$\tilde{\epsilon}_2 = \epsilon_0(1 - e^{-D\theta}) + D(\epsilon_m - \epsilon_0) \int_0^\theta \frac{e^{-D\theta}}{1 + ae^{-k\theta}} d\theta - \epsilon_m e^{-D\theta} \quad (17)$$

であり、この計算値を図9に示す。この場合実測値より

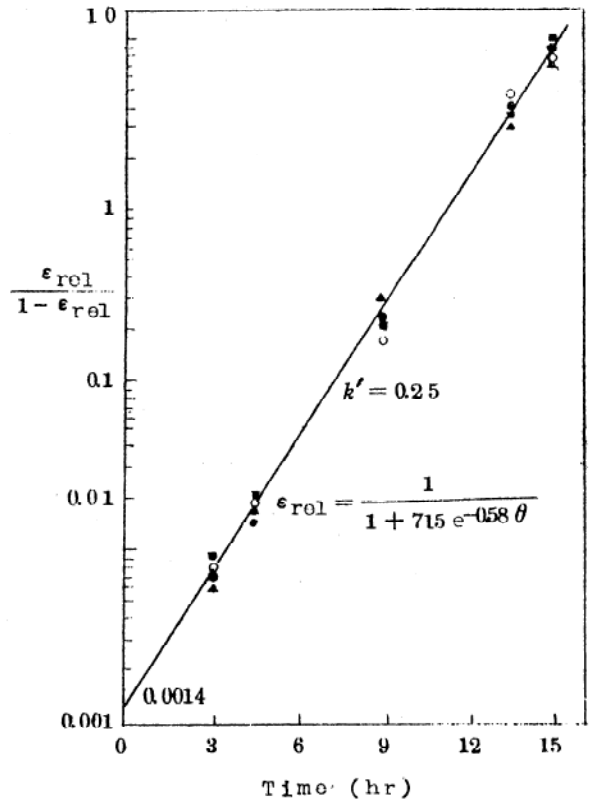


図8 1分子自触反応への  $\epsilon$  の適合性

$$\epsilon_{rel} = \frac{\epsilon - \epsilon_0}{\epsilon_m - \epsilon_0}$$

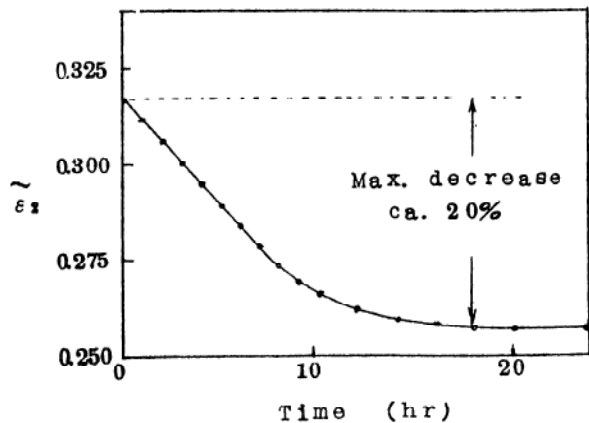


図9 第2槽内の平均生産活性の経時変化

$\epsilon_0=0.07$ ,  $\epsilon_m=0.318$  とおいた。流動開始後流入菌体の影響により槽の平均的比酵素生産率  $\tilde{\epsilon}_2$  は漸次減少するが20時間ではほぼ一定値(最大値  $\epsilon_m$  の80%)に達する。したがって流入菌体が lag なしに直ちに  $\epsilon_m$  の活性を示すと考えた場合と比較してこの実験では約20%差異があることがわかる。

つぎに槽内菌体濃度  $X_2$  のとき流動開始後  $\theta$  時間後の酵素濃度  $E_2$  は(6)式より計算し、その結果を図10に示す。実際の連続培養の流動開始後の  $E_2$  の実測値を図中の点で示し、(6)式より求めた  $E_2$  の値は実線で示した。これ

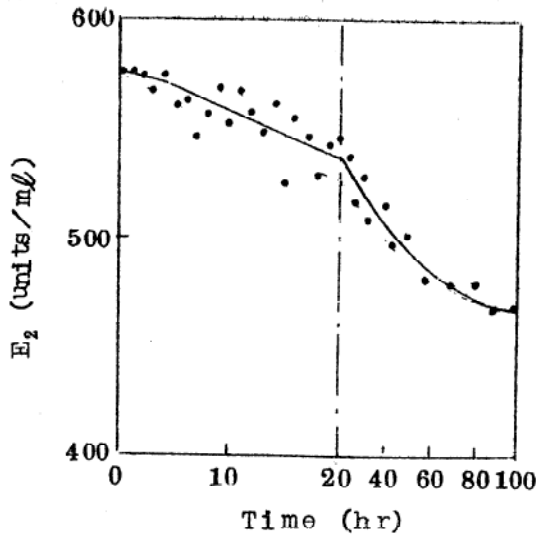


図10 第2槽における糖化酵素濃度の経時変化 実線：次式よりプロットした。

$$\frac{dE}{d\theta} = \left\{ \varepsilon_m e^{-D\theta} + \varepsilon_0 (1 - e^{-D\theta}) + D(\varepsilon_m - \varepsilon_0) \int_0^\theta \frac{e^{-D\theta}}{1 + ae^{-k\theta}} d\theta \right\} X + D(E_0 - E)$$

点：実測値である。

より実測値と計算値とはかなりよく一致しており、 $E_2$ は漸次減少し培養80hrではほぼ定常状態に達する。

なお定常状態における第2槽の糖化酵素濃度  $E_2$  を(7)式および(10)式より近似計算すると、

$$E_{2(\text{Steady})} = \frac{X}{D} \{ \varepsilon_0 + (\varepsilon_m - \varepsilon_0) I_k \} + E_0 \quad (18)$$

$$\approx 450 \text{ (units/ml)}$$

となり、定常状態において、実測値、図積分値および近似計算ともよく一致する。

すなわち、流入菌体の lag 現象を考慮に入れて、1分自触反応式を定常状態に達するまでの過渡状態の速度関係式に代入して、第2槽設計の理論値を求めることが出来る。これらの値は実験値ともよく一致するものであり、また生産槽の速度バランスを回分培養から導き出すときに起こる実際上の差異をよく説明するものである。

### 第2槽より第3槽への槽間移動における生産活性の tailing と滞留令

つぎに第2槽(生産槽)より第3槽(熟成槽)に移行した菌体の滞留令とその生産活性分布を考慮して、第3槽の過渡状態およびその定常状態を解析してみよう。

図6でみられるように、実際の連続培養の第3槽の定常状態における酵素濃度  $E_3$  はかなり高い値を示し、この場合も第2槽菌体が第3槽に流入した際、ただちに第3槽の酵素生産活性  $\varepsilon_3$  に変換するものでなく、第2槽

の生産活性を持続する tailing があるものと考えられる。そこで第2槽菌体が第3槽に流入した際の滞留令  $\theta$  と酵素生産活性の経時変化を示したのが、図11である。この

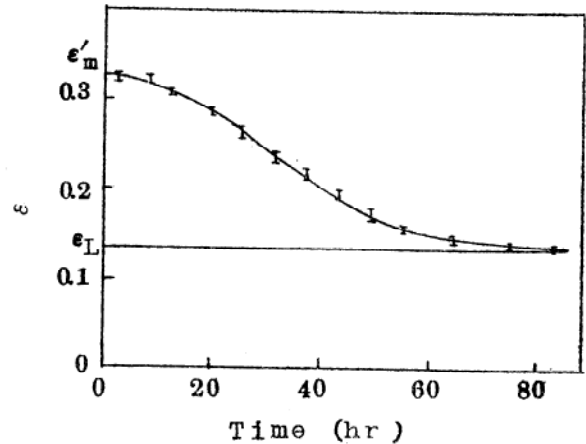


図11 第2槽相当菌体を第3槽相当培養液で置換培養したときの  $\varepsilon$  の変化

実線は次式を示す。

$$\varepsilon - \varepsilon_L = (\varepsilon'_m - \varepsilon_L) \left( 1 - \frac{1}{1 + a'e^{-k'\theta}} \right)$$

あるいは

$$\varepsilon_{rel} = \frac{\varepsilon - \varepsilon_L}{\varepsilon'_m - \varepsilon_L} = \frac{a'}{a' + e^{k'\theta}}$$

場合生産活性  $\varepsilon_3$  は逆シグモイド状に減少し、(11)式が適用出来、 $\varepsilon'_m = 0.334$ 、 $\varepsilon_L = 0.133$ 、 $a' = 17.3$  および  $k' = 0.0886$  である。図11のプロットは実測値であり、実線は一分自触反応的に減少するとして、上述の値を代入した計算値で、かなりよく一致することがわかり、(11)式を適用できるわけである。なお実際の連続培養では、第2槽の菌体はその槽の滞留令により前節に記したような分布をしているわけであるが、前節の操作条件で  $I_k$  値よりの計算からすると、活性損失は20%程度であり、第2槽のこの程度の効果を示す滞留令分布よりも、第3槽に流入した菌体の生理的效果の方がはるかに大きく、かつ第2槽の滞留令のより若い菌体とより古い菌体の生産活性は第3槽内では相殺される傾向になるから、簡単にするため第3槽に流入する第2槽の菌体の分布は考えないで一様なものと仮定しても大した誤差にはならないと考えられる。

上述の滞留令による生産活性の低下を(12)式および(35)式に代入して、第3槽の遷移状態における酵素濃度  $E_3$  の変化を示したのが図12である。

ここで第2槽より第3槽への流入酵素濃度  $E_0 = 480$ 、流動開始時の第3槽内酵素濃度  $E'' = 935$  および第3槽内の菌体濃度  $X_3 = 38$  を用いた。また(14)式および(15)式より定常状態における酵素濃度  $E_{3(\text{Steady})} = 838$  である。

ここで、図12にみられるように上述の計算値と実際の連

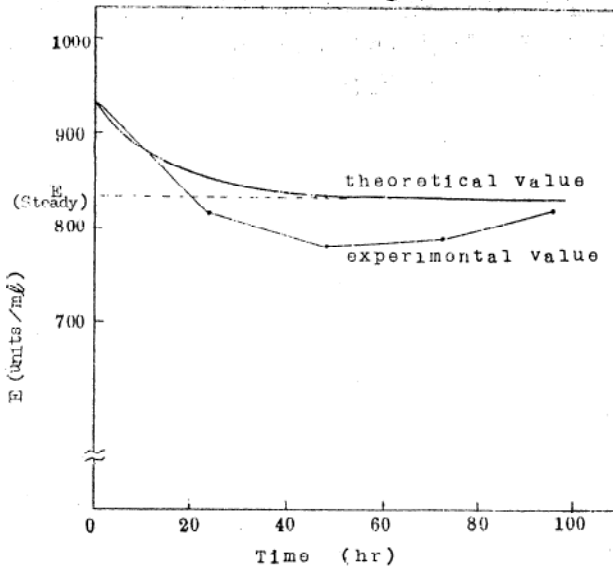


図12 連続培養第3槽における糖化酵素生産の経時変化  
理論値は次式より算出した。

$$E = e^{-D\theta} X \int_0^{\theta} \epsilon e^{D\theta} d\theta + E_0(1 - e^{-D\theta}) + E' e^{-D\theta}$$

$$D = 0.025, \quad E_0 = 480(\text{units/ml})$$

$$E' = 935(\text{units/ml})$$

連続培養での実測値とは、遷移状態において多少差異が認められるが、この差異は流動開始時の培養菌体が時間経過とともに過度に老化し、活性低下をきたしたためと考えられる。したがって初発培養菌体が流出すれば定常状態になり、この定常状態値は上の計算値とほぼ一致する傾向を示している。したがって第3槽にも上述の滞留令とその活性分布が適用出来得ることを示している。

### おわりに

微生物の連続培養が研究され始めてからすでに十数年になり、その間、多くの基礎的な研究および回分培養と比較して連続培養の優位性など認められて来ている。しかし現在連続培養が工業的規模にあるものは速醸法、酵母醗酵関係および污水处理関係などにみられるにすぎない。この連続培養の工業化を困難にしている問題は、微

生物の変異性、雑菌による汚染、他のプロセスの連続化および微生物代謝の動特性の知識の不足などによるものであろう。このような問題は多くの分野の人々の協力をなくしては解決出来ない問題であり、より多くの人々がこれらの問題に取りくまれることを願うしだいである。なお現在行なわれている工業的規模にある連続培養については、次の機会に譲る。

### 記号

$C$ : 濃度 (一般)     $X$ : 菌体濃度     $S$ : 基質濃度  
 $P$ : 生産物濃度     $E$ : (糖化) 酵素濃度     $V$ : 培養容積  
 $F$ : 培地供給速度     $D$ : 希釈率 (=  $F/V$ )  
 $G$ : 比総代謝率     $Y$ : (収率) 定数     $Y_D$ : 滞留令—累積分布関数 (=  $1 - e^{-D\theta}$ )  
 $K$ : (飽和) 定数     $A, a, k$ : 定数     $t$ : 時間

### ギリシャ文字

$\theta$ : 滞留時間     $\rho$ : 比生産率     $\mu$ : 比増殖率     $\epsilon$ : (糖化) 酵素生産率

### 添字

1, 2, 3: 第1, 2, 3槽     $m$ : 最大     $L$ : 最低定常状態  
 $\circ$ : 流入 (初発)     $'$ : 減少

### 文 献

- 1) 岡崎: 本誌 18巻, 5号, 29 (1966)
- 2) Gaden, E.L.JR.: Chem. Engng., 159 (April 1956)
- 3) Gaden, E. L. JR.: J. Biochem. Microbiol. Tech. Eng., 1, 413 (1959)
- 4) 照井: 東大応微研シンボ, 第5集, 159 (1963)
- 5) 照井, 金野, 岡崎: 東大応微研シンボ, 第5集, 259 (1963)
- 6) 岡崎, 照井: 醗工誌, 42, 320 (1964)
- 7) 岡崎, 新名, 照井: 醗工誌, 43, 581 (1965)
- 8) Herbert, D., Elsworth, R.C.: J. gen. Microbiol., 14, 601 (1956)
- 9) Herbert, D.: S.C.I. Monograph, No12, p21 (1961) (Soc. Chem. Industry, London)
- 10) Herbert, D.: Recent Progr. Microbiol., 381 (1958) (Symp. Held at the VII International Congress (Microbiol., Stockholm))
- 11) Deindoerfer, F.H., Hnmphrey, A. E.: Ind. Eng. Chem 51, 809 (1959)
- 12) Adames, S.L., Hungate, R.E.: Ind. Eng. Chem., 42, 1815 (1949)
- 13) Galle, H.A.: J. Agr. Food Chem. 2, 66 (1954)