



# 呼吸と醗酵

合葉修一\*

## 1. はじめに

醗酵工学にとって「呼吸と醗酵」は陳腐ながらなお新しい研究課題の一つであり、パン酵母は格好な研究材料である。酵母が酸素の存在下（好気）でも環境に過剰の糖（グルコース、約 70 ppm 以上）が存在すると呼吸と醗酵が並行する好気醗酵現象を呈し、その収率  $Y_{x/s}$  (g cell/g glucose) は呼吸のみの場合の  $Y_{x/s} \div 0.5$  より著しく低下することが古くから知られている。酵母菌体の生産に当っては好気醗酵を可及的に押える目的で糖液の供給を培養期間中、

時間的に配分し培養液中の糖を低濃度に保った流加培養法が一般に採用されている。

ここでは流加培養法を一步すすめたオン・ラインの計算機制御を計画するに至った経緯につきその要点を述べよう。

## 2. 好気醗酵

グルコースをパン酵母の増殖制限基質とした連続培養の実験例を図1に模式的に示した。

図中、菌濃度  $X$  (g/liter) は残糖濃度  $S$  の増大と共に顕著に減少し ( $S > S_c$  の場合)、好気醗酵の開始とともに  $Y_{x/s}$  が減少すること、 $S_c$

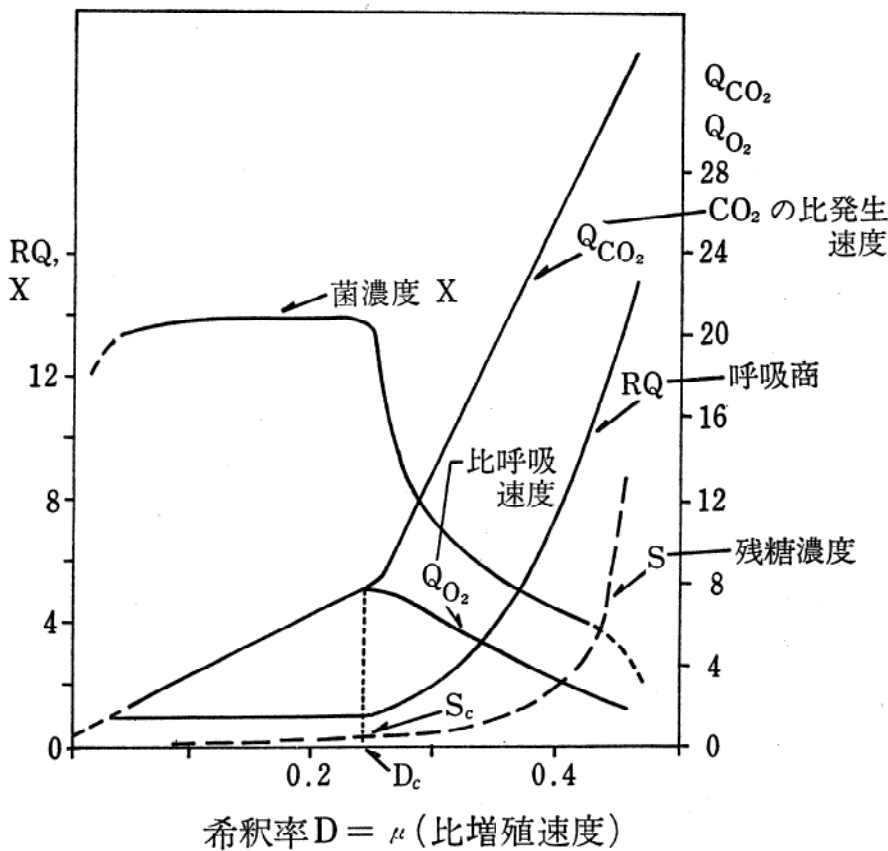


図1 パン酵母の連続培養例 (模式図), (制限基質グルコース).

\* 合葉修一 (Shuichi AIBA), 大阪大学工学部, 醗酵工学科, 教授, 工博, 生物化学工学

に対応する横軸D(希釈率=比増殖速度  $\mu \text{ hr}^{-1}$ ) まではグルコースは完全酸化(呼吸)のみを受け菌の比呼吸速度  $Q_{O_2}$  (mol  $O_2$ /g cell hr) はその炭酸ガス比発生速度  $Q_{CO_2}$  (mol  $CO_2$ /g cell hr) に等しく(呼吸商  $RQ=Q_{CO_2}/Q_{O_2}=1.0$ ), 一旦好気醗酵が始まるとエタノールの発生に伴って  $Q_{CO_2}$  は増大する反面呼吸は低下し  $RQ$  は1.0より大となることなどが明らかである。図に時間軸  $t$  がないのは夫々の  $D$  ( $=\mu = \frac{1}{X} \cdot \frac{dX}{dt}$ ) で求めた  $X$ ,  $Q_{CO_2}$  などの定常値(データは省略)を表示するからである。

さて、菌体の生産性  $D \cdot X$  を最大値に近づけるには図中  $S_0$  または  $D_0$  と記す近傍に対応する条件で、換言すれば完全酸化,  $RQ=1.0$  を

ほぼ満足する  $\mu$  のうちその最大値付近, 具体的には  $RQ$  が僅かに1.0より大となるように(微量のエタノールを検出する), 間欠的に糖液を流加しかつ回分で操作する。これが前述の流加培養法の基本である。

### 3. 予備実験

流加培養では時間  $t$  の経過と共に菌濃度  $X$ , 液量  $V$  (liter) いずれも変化すること及び糖液の流加速度  $F_1$  (liter/hr) は培養期間内の時間々隔  $\Delta t_1$  に対応するが便宜上  $F_1$  を  $F$  とまづ略記する。流加液中の糖濃度  $S_R$  (g glucose/liter) は流加後菌によって速やかに  $S \approx 0$  になるとすれば物質収支から

$$F = \mu' \cdot X / Y_{X/S} \cdot S_R \dots\dots\dots (1)$$

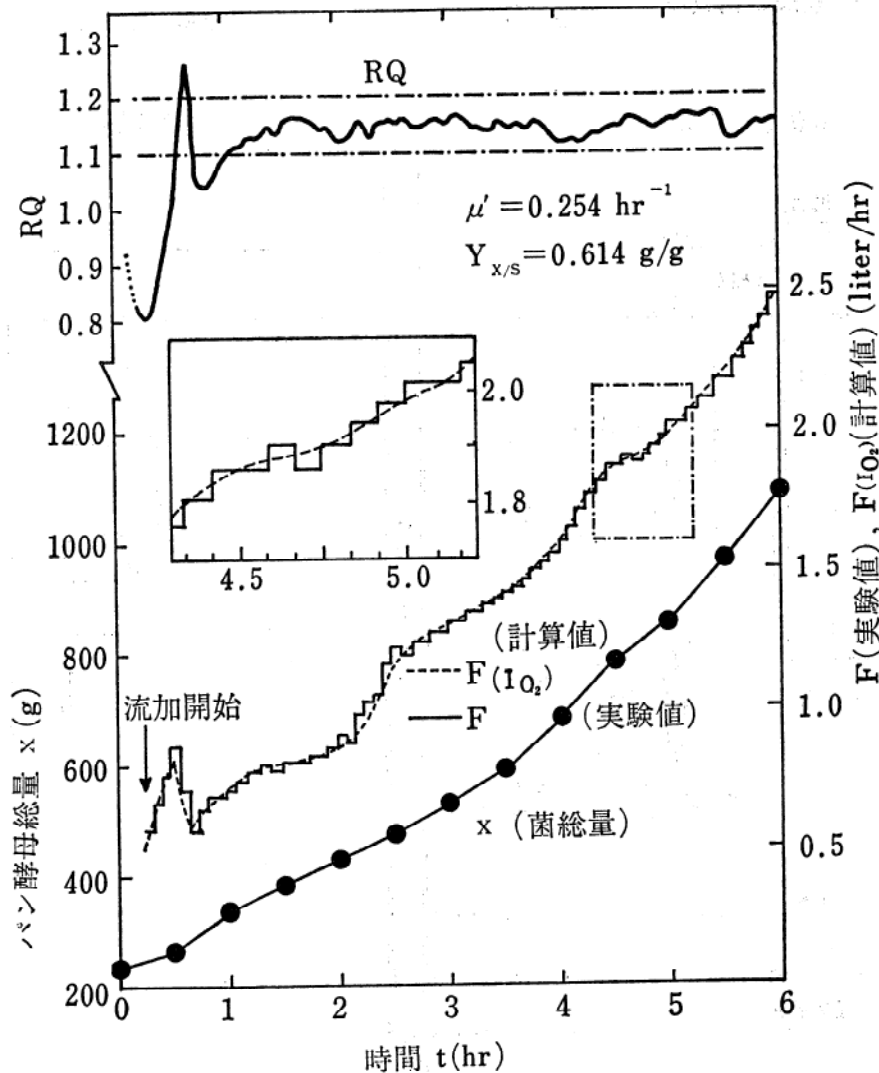


図2 パン酵母の流加培養実験例 (50 liter 培養槽; 精密培地).  $t = 4.5 \sim 5.0$  hr の流加速度データの拡大図を図中に示した.

ここに  $\mu' = \frac{1}{X} \cdot \frac{dx}{dt}$ ,  
 $x = V \cdot X$

図1で僅かに好気醗酵を示す程度の $\mu$  (または $S$ )では $Q_{CO_2} - Q_{O_2}$ が菌の呼吸を補正したエタノールの比発生速度を表すからエタノールの収率 $Y_{P/S}$ はグルコースの比消費速度 $\nu'$ を導入して

$$Y_{P/S} = \frac{Q_{CO_2} - Q_{O_2}}{\nu'} \left( \frac{\text{mol ethanol}}{\text{mol glucose}} \right)$$

$$= \frac{Q_{O_2} [(Q_{CO_2}/Q_{O_2}) - 1]}{\mu' X / Y_{X/S}}$$

$$= \frac{I_{O_2} (RQ - 1)}{\mu' X / Y_{X/S}} \dots\dots\dots(2)$$

ここで

$$\nu' = \frac{1}{X} \frac{-\Delta S}{\Delta t} \left( \frac{\text{mol glucose}}{\text{g cell hr}} \right)$$

$$I_{O_2} = Q_{O_2} \cdot X \text{ 全酸素消費速度 } \left( \frac{\text{mol } O_2}{\text{hr}} \right)$$

式(1), (2)から $\mu' X / Y_{X/S}$ を消去して

$$F = \frac{I_{O_2} (RQ - 1)}{Y_{P/S} \cdot S_R} \dots\dots\dots(3)$$

$Y_{P/S}$ を $(RQ - 1)$ に対して線型に近似すると

$$Y_{P/S} = K (RQ - 1) \dots\dots\dots(4)$$

$$1.0 \leq RQ \leq 1.2$$

$K$ : 比例定数 (流加液の種類により定まる実験定数). 式(3), (4)から

$$F = \frac{I_{O_2}}{K \cdot S_R} \dots\dots\dots(5)$$

なお

$$I_{O_2} = F_{air} p_{O_2} \Big|_{IN} - F_{air} p_{O_2} \Big|_{OUT} \doteq F_{air} (p_{O_2} \Big|_{IN} - p_{O_2} \Big|_{OUT}) \dots\dots\dots(6)$$

$F_{air}$ : 空気流量(mol/hr),  $p_{O_2}$ : 酸素分圧(% ; atm)  $RQ \doteq 1.0$ で操作する限り  $F_{air} \doteq F_{air}$  ;

添字 IN, OUT: 培養槽入口, 出口.

空気流量及び酸素分圧差 (槽出入口) の連続

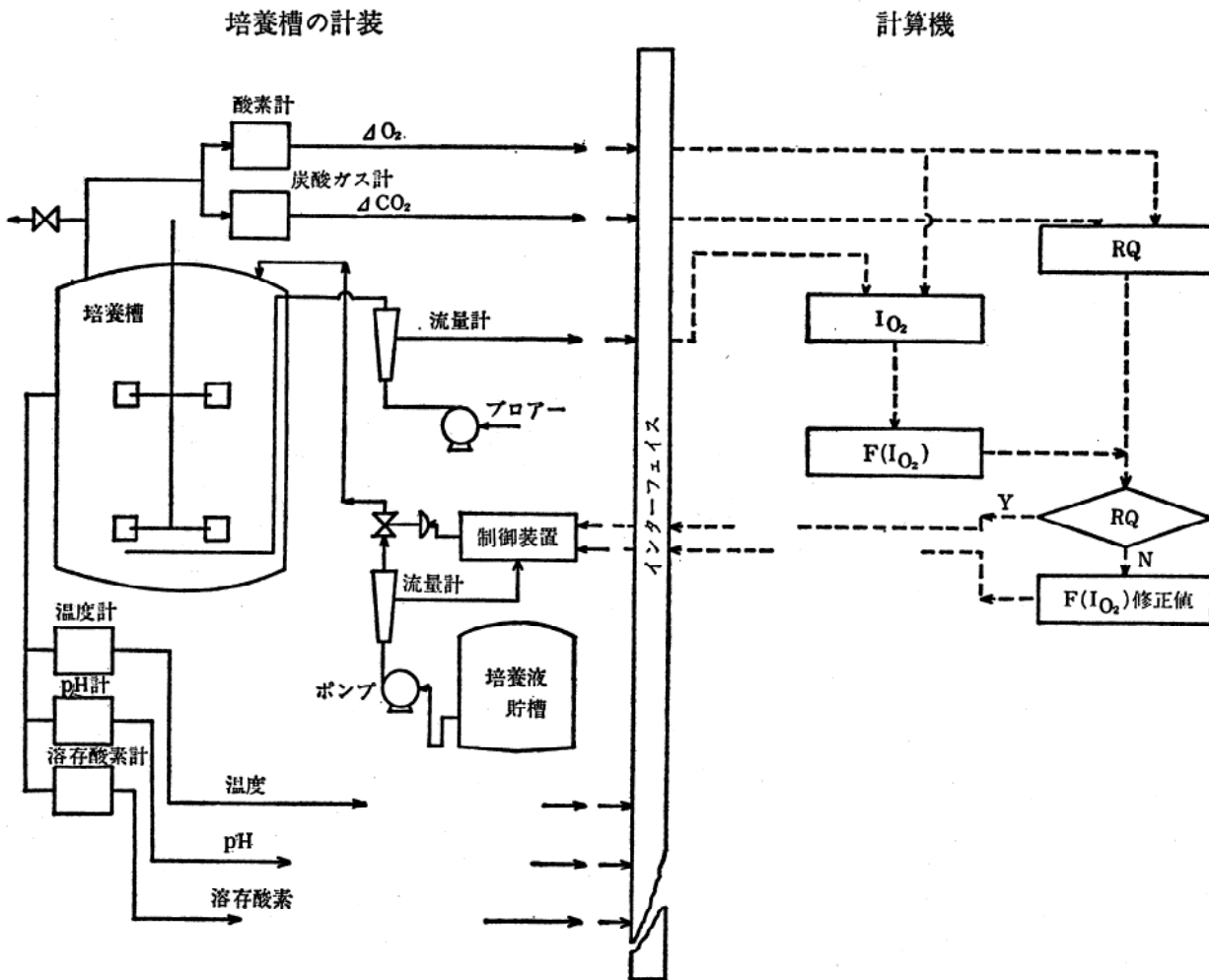


図3 パン酵母生産のオン・ライン計算機制御 (計画)

測定から求める  $I_{O_2}$  (式(6)), これを用いた流加速速度の計算値  $F$  (式(5)) を再び便宜上  $F(I_{O_2})$  とする. この方式でパン酵母の流加培養を 50 liter の培養槽 (糖密培地) で実施した例を図 2 に示した. 図中  $F(I_{O_2})$  に沿って 5 min 毎に手動で糖液の流加速速度を調節した結果, 流加開始後の約 1 hr を除き  $RQ$  の変動は 1.1~1.2 の範囲に落ちついている. 比増殖速度  $\mu'$ , 収率  $Y_{X/S}$  (図中) はいづれも満足すべき値である. ここでえた菌体のパン酵母としての品質は専ら経験に頼る従来の流加培養法の品質に比べてその色は無くかつ本法では後者の場合の収率, 品質の振れをゼロに漸近させ安定した操業と収率の増大が期待できよう.

#### 4. $RQ$ 制御

前述の予備実験を参照しここでは操作量, 制御量をそれぞれ  $F(I_{O_2})$ ,  $RQ$  としたパン酵母生産のオン・ライン計算機制御の考え方を図 3 に示した. 培地の種類とその糖濃度がきまれば式(5)中の  $K$ ,  $S_R$  が既知となるから,  $I_{O_2}$ ,  $RQ$  及び  $F(I_{O_2})$  をそれぞれ計算機内で演算し, あらかじめ設定した  $RQ$  変動範囲の制約条件に対応して  $F(I_{O_2})$  そのままか, または修正し制御装置を経て流加ポンプを作動させる.

この計画によれば図 2 におとらない安定した操作ができると考えられる. しかしながら, これを生産規模の培養槽 ( $V=50\sim 100m^3$ ) で実施するには

1)  $O_2$  分析計と  $CO_2$  分析計の応答時間の本質的な相違 (ずれ) が  $RQ$  演算に及ぼす影響

の除去方法,

2) 培養槽の寸法拡大に伴う排気ガス中の  $O_2$ ,  $CO_2$  分析の時間遅れ対策,

3) 流加開始時 (スタート・アップ) における  $RQ$  の乱れの遁減法,

4) パン酵母自体の動特性及びこのシステムの動特性

等々の諸問題を充分検討しておくことは勿論である. かくして, 図 3 に示した計画がパン酵母の生産現場に応用されその威力を発揮する日が近いことを期待したい.

#### 5. むすび

新抗生物質, 制がん剤, 新蛋白資源, 微生物による有機化合物の新変換法等々の開発に無限の可能性を秘めた省エネルギー的未来産業として醸酵工業つまり微生物利用工業は新たに時代の脚光を浴びようとしている. しかし, 原料費, 設備費, 賃金などの高騰に加えて環境規制基準の強化という厳しい諸条件が山積するわが国の微生物利用工業の将来にむけて, 広く生物化学工学の立場から既存技術の合理化, 高能率化を目指す研究の重要性も言をまたない.

マイクロとマクロの両視点から微生物とその反応及び付帯する各種装置…培養槽, 殺菌装置, 空気の除菌装置等々…とその操作を量論的かつ工学的に体系づけようとする生物化学工学の研究ノートとして「呼吸と醸酵」を例にとり「パン酵母生産のオン・ライン計算機制御」に及んだ次第である.