



## 醸酵工学科第6講座(市川研究室)

市川 邦介\* 菅 健一\*\*

工学部醸酵工学科第6講座は、醸酵工学単位操作およびプロセス設計を担当する講座として昭和45年に誕生した。現在の構成は開設以来担当している市川邦介教授の他に菅健一助教授、脇哲朗助手、倉光利江技官であり、大学院後期課程2名(内1名はタイ国女子留学生)、前期課程5名ならびに学部4年生7名、それとユネスコ留学生として1名が配属されている。

本講座の主要な教育、研究課題は主として廃水処理工学および生物反応プロセスの最適化ならびにその制御に関するものであり、生物化学工学と制御工学の両面から醸酵プロセスを取扱うことを目指している。

研究テーマとしては廃水処理の分野では1. 回転円板法による窒素を含む有機廃水の同時処理、2. *Paracoccus denitrificans* による脱窒素反応の動力学的研究と、その単一汚泥式窒素除去システムへの応用、3. セルロースを含む廃水からのメタン醸酵、4. 磁力による赤潮生物の除去等である。生物反応プロセスの最適化ならびに制御に関するものとしては、1. 流加培養によるセルラーゼ生産プロセスの制御、2. 固定化酵素の最適操作と最適取替え問題、3. 固定化酵素反応プロセスのサンプリング値制御、4. シゾフィラン(多糖類)生産の最適化である。以下これらの研究について概説する。

### 1. 回転円板法

高濃度の有機炭素源と無機窒素を含有する廃水を有機炭素源のみならず富栄養化の原因となる窒素を硝化と脱窒素によって除去することを目的にしている。生物学的脱窒素法は独立栄養

性絶対好気性硝化菌が好氣的に  $\text{NO}_2^-$  さらに  $\text{NO}_3^-$  までの酸化過程と、従属栄養性通性嫌気性脱窒菌が嫌氣的に  $\text{NO}_3^-$  から  $\text{NO}_2^-$  さらに  $\text{N}_2$  ガスにまで還元する脱窒過程から成立している。硝化菌は比増殖速度が小さいため、回転円板上にこの菌を付着固定すれば短かい滞留時間で硝化反応が達成できる。しかし流入COD濃度が高いと、付着菌体膜厚が増大するが、これのCOD除去への影響はほとんどみられなかったのに対し、硝化率は著しく低下した。これは円板上の付着菌体層内に増殖速度の大きいCOD酸化菌と、小さな硝化菌が混在するため、増殖速度の差に起因して微生物種の分布が生じ、基質、特に絶対好気性である硝酸菌への酸素移動が律速になるためと判明した。したがってこの系では多段槽型回転円板法を用い、第1段でCOD除去を十分行えば第2段以下では付着菌体層は薄くなり、しかも硝化菌がdominantになり、硝化反応が進むことがわかった。一方硝化反応で生じた  $\text{NO}_2^-$ 、 $\text{NO}_3^-$  を第1段にFeed backすれば、円板上の微生物層が嫌気になっていることならびにCODが存在することより脱窒反応も生じることがわかった。この結果に基づいて、これらのプロセス設計のための動力学的検討を行っている。

### 2. *Paracoccus denitrificans* による脱窒素反応の動力学的研究とその単一汚泥式窒素除去システムへの応用

水系から生物学的に窒素成分の除去を目的とした研究である。脱窒菌として *P. denitrificans* を選び、好気、嫌気各条件下、単一槽での好気、嫌気変換遷移状態での増殖特性、好気、嫌気くり返し効果について動力学的に検討した。一方高濃度アンモニアを好気・嫌気くり返し式硝化脱窒活性汚泥システムで処理すると、脱窒

\* 市川邦介 (Kunisuke ICHIKAWA), 大阪大学, 工学部, 醸酵工学科, 教授, 工博

\*\* 菅 健一 (Kenichi SUGA), 大阪大学, 工学部, 醸酵工学科, 助教授, 工博

菌の純粋培養系でえられたと同様、くり返し周期が短い方が処理効率が高くなることが判明した。また嫌気-好気槽交互連結式システムでは、逆混合が大きすぎると返送比をあげた場合、嫌気槽の溶存酸素が高くなり逆に脱窒効率は低下することも示された。

### 3. 多基質流加培養法によるセルラーゼ生産プロセスの制御

*Trichoderma reesei* のセルラーゼ生合成は、セルロースからの可溶性分解物あるいはセロビオースによる誘導とグルコースまたはその代謝物による抑制とによって調節されていると考えられている。この抑制効果を抑える一つの方法として、流加培養が考えられる。流加培養での酵素生産に当っては、環境条件により、大きく影響を受けるので、フィードバック制御を伴うシステムが適当と考えられ、その制御指標としては比増殖速度と一次の相関があり、また、非常に応答の速い  $\text{CO}_2$  濃度を用いて行った。セルロースのみを基質とした場合、増殖速度は生成されるセルラーゼの活性に支配され、任意にセルラーゼの生産性を制御することは困難であったが、セルロースの他に、酵素反応の生成物であるセロビオースまたはグルコースを外部から加えることにより、増殖速度の制御が可能と考えられる。しかし、セルロース・グルコース 2 基質系によって酵素生産速度を維持するためには合成されたセルラーゼ活性が、不溶性セルロースからのセルラーゼ生合成の誘導物質の生産に直接関係することおよび、 $\mu$  を維持するために外部から供給されるグルコースがセルラーゼ生合成の抑制作用のあることより、不安定要素が多い。従って、セルロース・グルコース系を安定な系とするためには、さらにセルラーゼ生合成の誘導物質であるセロビオースの供給を含めた多基質供給方式が必要であり、これについて検討している。

### 4. 固定化酵素反応プロセスのサンプル値制御

キトサンで固定化したグルコースイソメラーゼ活性を有する *Streptomyces sp.* を用いてグ

ルコースを異性化した場合、反応時間の経過に伴って活性が低下する。このような反応操作において、最大の利潤をうるための反応操作を連続型最大原理を用いて検討しその最適取替政策を決定した。実際の反応操作においては、センサーにより出口での反応率を常に監視し、連続的に制御することは、今日の段階では困難な点もあり、オートアナライザーで分析できる場合も試薬の浪費など、経済的でない場合がある。本研究では、固定化酵素反応器におけるサンプル値制御系について、サンプリング周期の長さの制御性におよぼす影響を検討した。すなわち、与えられた操作期間に対し、劣化を考慮した反応速度式より最適利潤を得るための反応率ならびに温度の経時変化を micro computer で計算し、この温度変化を program setpoint として、カラムの操作温度を制御した。まずあらかじめ定めた周期ごとに出口の反応液をサンプリングし、グルコースおよびフラクトースを測定することによって反応率を求め、この値を computer に input し、計算値と比較した。この間の偏差が許容範囲を越えた場合には、新しいデータに対応する酵素活性を計算し、この値に基づいて、再び最適反応率および、温度操作を計算し、これにしたがって制御した。このように計算値と実験値を比較しながら全操作期間について動的制御し、サンプリング周期の制御の安定性におよぼす影響について検討している。

### 5. キノコによる多糖類の生産

スエヒロタケは培養液中に多糖類を生産する。この多糖類は  $\beta$ - (1 $\rightarrow$ 3) 結合のグルコース残基を主鎖とし、 $\beta$ - (1 $\rightarrow$ 6) 結合の単一グルコース残基を側鎖にもつ単純グルカンであるが、単位鎖が 3 重らせん状にからみ合って分子量数百万以上の高分子となるため、工業的な生産において、培養装置、特に攪拌翼の形状などに特別な考慮が必要である。また培養工学的には、目的生産物である多糖類が単純グルカンであることに注目してグルコースの菌体ならびに副生産物への消費をできるだけ抑制しながら、多糖類の収率ならびにその生産性の向上を

## 生産と技術

はかることを目的として、窒素源であるグルタミン酸ナトリウム濃度の多糖類の収率ならびに生産性におよぼす影響について検討している。また生産された多糖類は工業的にはこれを医薬品として用いるため、超音波によって適当な長さに切断するという操作を行っている。したが

って、もし、多糖類の分子量をなんらかの方法により制御することができれば、上の操作は省くことができ、培養液粘性も抑制することができると考えられ、難しい問題であるがこの点について現在検討中である。

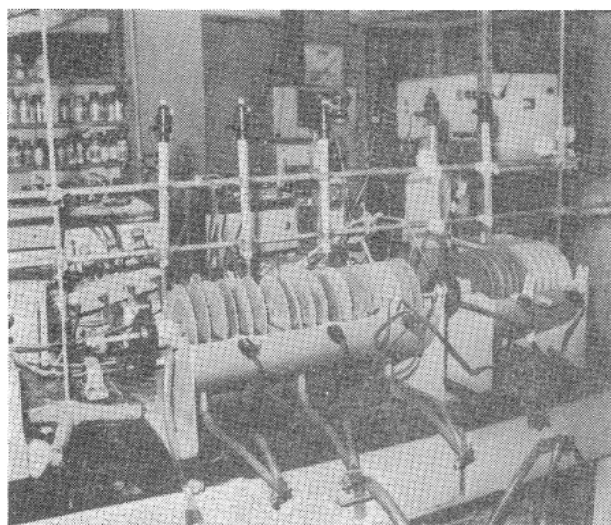


図1 回転円板法による硝化と脱窒

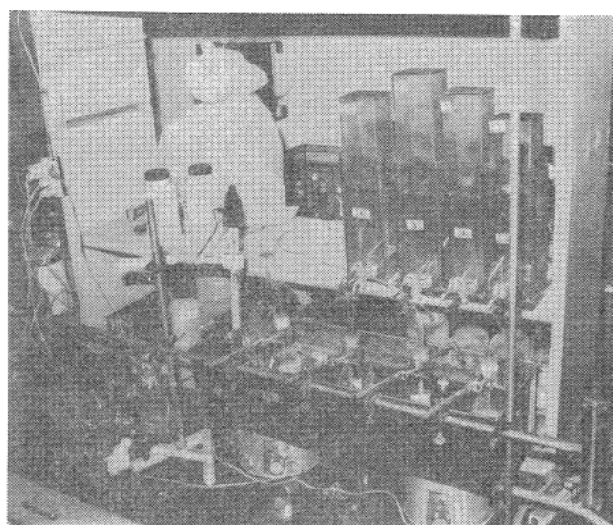


図2 セルロースからのメタン醜醇

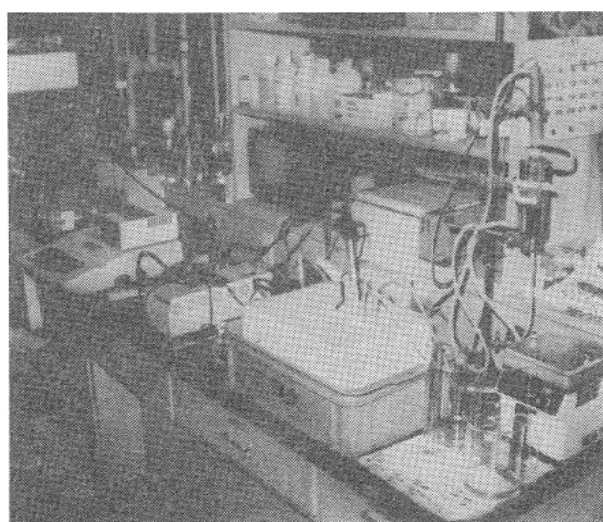


図3 固定化酵素反応プロセスのサンプル値制御