



# バイオプロセスにおける最適化の実現

塩谷 捨明

## 1. バイオプロセスの最適化

我々は、古くから微生物を中心に、また最近では動物や植物細胞などの生物を利用して様々な有用物質を生産し利用してきた。このような生物を利用したプロセスを工業化するには、生物機能を最大限に発揮させ最も経済的な方法が追求される。そのためには(i)菌株、細胞株の改変、改良、育種、スクリーニングと(ii)培養環境を好適に保つことが肝要となる。前者はより良い生産株を発見、改良してゆくことであり、最近では試験管内組み替えDNA法や細胞融合などによる細胞内遺伝子組み替え法によって生産性の高い菌株、細胞株が得られている。一方どの様に高生産性の株を得ても、それを大量に好適な環境で培養できなければ工業化はおぼつかない。すなわち、車の両輪の様に菌株・細胞株の改変・育種と大量培養技術の確立によって、生物利用プロセスが工業プロセスとして発展してきた。我々は、培養装置を最適に保ち、最経済的な運転を行うにはどの様にしたら良いかを研究してきた。本稿ではこの様な問題に対して提案している一つのアプローチの方法を微生物反応を例に、簡単に説明し紹介したい。

## 2. 環境濃度制御から反応速度制御へ

図1は醗酵槽内の反応を模式的に表現したものである。図に示すように、微生物は自らが増殖するとともに我々にとって有用な物質を菌体内または菌体外に生産する。既に述べたごとく菌そのものの遺伝情報を遺伝子操作によって生産に都合良いように改良する一方、温度・pHや

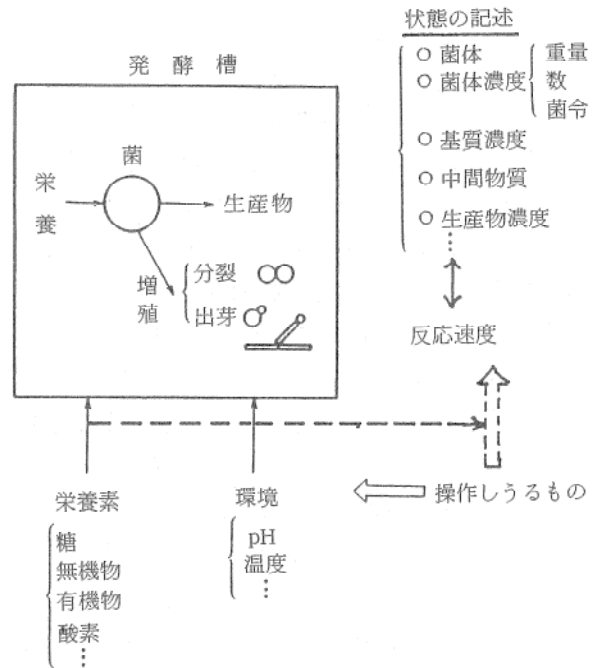


図1 微生物反応概念図 図1

栄養源濃度などを操作することにより、最経済的な培養方法が追求される。環境濃度（主として糖濃度）を最適に保つべく、栄養培地は添加するが抜き出しはしない流加培養（半回分培養ともいう）が多く採用されている。そこでどの様な栄養培地の添加を行えば最も効果的に大量の生産物が得られるかが当面している一つの課題である。

この問題は、一般に反応槽内の環境濃度と生産や増殖を特徴づける単位菌体あたりの生産物生成速度（比生産速度 $\rho$ と呼ぶ）や菌体増殖速度（比増殖速度 $\mu$ ）とを関係づける数式モデルを作りこの数式モデルを基に最適な基質添加量即ち最適な環境濃度パターンを求めることにより解くことが出来る。しかし、数値計算で求めた最適解は必ずしも現実に最適ではない。というのは、初期条件を数値計算に用いた値に揃えるのが困難であったり、簡単なモデルで複雑な現象を表現するため、モデル化が容易でなく、

\*塩谷捨明 (Suteaki SHIOYA), 大阪大学工学部醗酵工学科, 助教授, 工学博士, 生物プロセスシステム工学

非常な労力をかけてモデルを作り上げてもモデルパラメータがしばしば変化し、場合によってはモデル構造自身も変わってしまうことがあるので、現に運転中の現象に対してその操作が最適である保証がないからである。

モデル化の困難性は主に反応槽内環境濃度変化を記述しようとしたことに起因するので、我々は全く違った観点から最適化の実現をはかろうとしている。即ち、最適な環境濃度パターンを実現するのではなく、培養状態を表現する状態量として比増殖速度  $\mu$  や比生産速度  $\rho$  をとり、これらの量を被制御量や操作量などの変数ととらえていこうというのが我々の基本的な考え方である。現実には反応速度  $\mu$  や  $\rho$  の最適なパターンを求め、これを培地添加量変化によって実現していこうとするものである。比増殖速度  $\mu$  と生産速度との関係の例として、図2にリジン生産の場合を、図3にグルタチオンの場合を示す。これらの関係から例えば、次の問題：「ある操業時間内に目標グルタチオン濃度を達成しかつグルタチオン総生産量を最大にする最適な  $\mu$

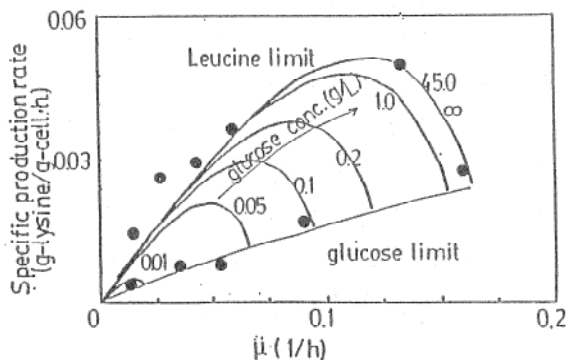


図2 リジン指数流加培養における  $\mu$  と  $\rho$

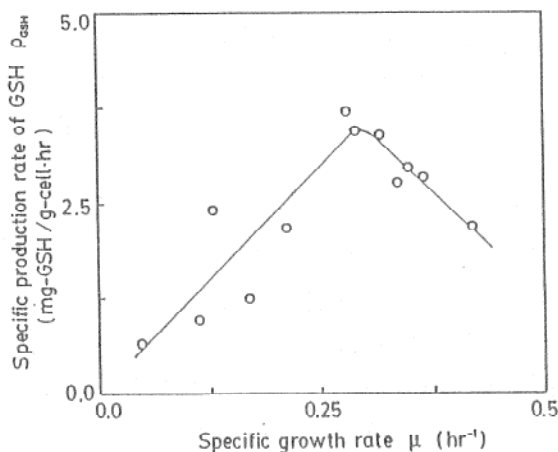


図3 グルタチオン醗酵における  $\mu$  と  $\rho$

のパターンを求めよ」を解く。この最適解は  $\mu$  の bang-bang 操作になることが証明されるので、結局この  $\mu$  の bang-bang のパターンを糖流加によって実現すれば、上記「グルタチオン最大生産問題」の最適解が達成されるわけである。そのためには  $\mu$  を糖流加によって bang-bang 型に制御することが必要になる。

### 3. 直接測定できない量の推定と制御

しかし、ここで  $\mu$  などの反応速度は一般に直接観測検知できないという問題に遭遇する。けれども、これらの量はマクロな物質収支の関係や pH 制御に要した酸やアルカリの量から算出しカルマンフィルターなどの雑音除去フィルターを用いることにより推定することができた。以下具体例を示そう。

パン酵母の培養では、 $\mu$  を bang-bang 型に変化させるとパン製造時の発酵能が最大となる酵母が得られる。この制御方策は一種の同調培養法である。比増殖速度は直接観測できないので、菌体濃度測定値よりカルマンフィルターを利用して推定した。また、bang-bang 型になるように基質流加量を適応制御を組み込んだ P F シス

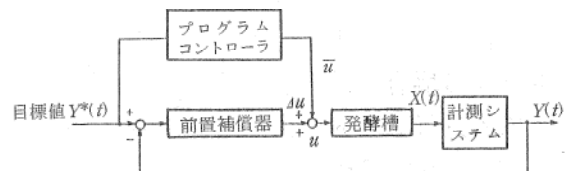


図4 流加培養 P F システム

テムにより制御した。P F システムとは図4に示すように基準入力をフィードフォワード的に与え、この基準入力でも追従できない制御できない部分をネガティブフィードバック補償により補正することを考える。この様な制御システムを P F システムと呼ぶ<sup>1)</sup> これは、一種のフィードフォワード/フィードバック制御システムである。前置補償器で補正すべきシステムは時変系となるので多くの場合は適応制御などの制御系を用いた法がよい<sup>2)</sup> この推定制御システムを用いた制御結果は図5に示すが、 $\mu$  はほぼ目標値に追従していると思われる。

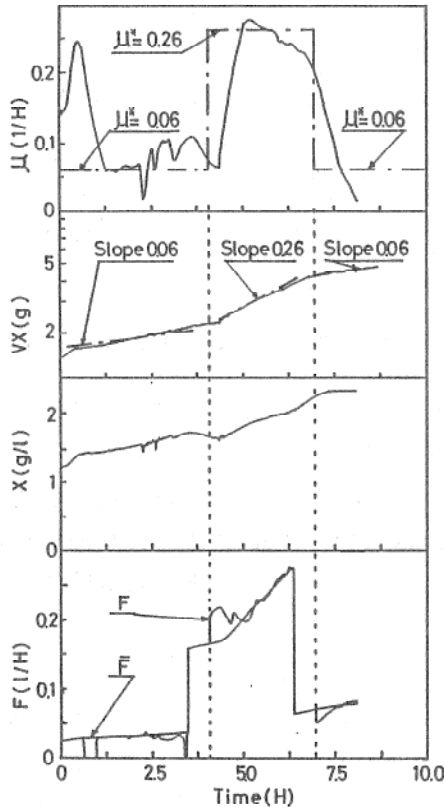


図5 パン酵母培養におけるμのbang-bang制御

#### 4. 反応速度測定系へのpH高級制御の応用

反応速度を知るためにpH制御を利用することもできる<sup>3)</sup>。バイオプロセスにおいては、例えば、菌体が増殖や生産物生成をおこなってpHが変化する場合や、加水分解反応を触媒する酵素反応が進行してpHが変化する場合には、至適なpHの値に保つために、随時、酸や塩基を適量添加する必要がある。このとき添加した酸や塩基の量から発酵プロセスにおける菌体の増殖速度、生産物生成速度、酵素活性などを知ることができる。

いま反応系におけるpH変化を考えてみよう。離散系の表現において、時刻(k+1)でのpHの変化は次のように書くことができる。

$$\Delta \text{pH}(k+1) = \Delta \text{pH}(k) + aF(k) - bR(k) \quad (1)$$

ここに、 $\Delta \text{pH}(k)$ ; 設定値からのpHの差

$F(k)$ ; 酸またはアルカリの流加速度

$R(k)$ ; 反応速度に対応して消費または生産される酸またはアルカリの消費または生産速度

パラメータ  $a$ ,  $b$  は酸またはアルカリの流加速度に対応して変化するpHの値を示す係数であり、滴定曲線の勾配に対応している。さて、(1)式において  $F(k)$  を知って  $R(k)$  を求めるには、大別して二つの方法が考えられる。一つは  $\Delta \text{pH}(k+1) = \Delta \text{pH}(k) = 0$ , 即ち完全にpHを一定に制御できるならば (Perfect control) (1)式から

$$R(k) = (a/b) F(k) \quad (2)$$

と与えられることがわかる。もちろん、このとき用いる酸・アルカリの当量比にあたる  $(a/b)$  の値が知られていることが必要である。他方、完全なモデル (Perfect model) (例えば、偏差の大きさなどに依存せず(1)式で完全にpH変化を記述できる場合) を用い  $F(k)$ ,  $\Delta \text{pH}(k)$  から  $R(k)$  を逆に解くことが出来るならば反応速度を知ることができる。しかしこれらの方法の前提条件はいずれも満たされることはなく、何らかの近似に頼らざるをえない。また、Perfect modelを知ることは、特にバイオプロセス系に於いては困難であるが、もし精度のよいパラメータ  $a$ ,  $b$  が得られたとしても、pHが大きく変動することは  $a$ ,  $b$  の誤差につながるので、例え後者の方法によるとしてもpHはできるだけ精度良く制御できることが反応速度を知る上での必須条件となる。そのような、より高性能のpH制御を高級制御 (Advanced control) と呼ぶが、我々は前者の例として、酵素反応速度推定を対象として学習機能をもつ繰り返しPFシステムを<sup>4)</sup> 後者の例として、パン酵母増殖速度推定を対象に外乱予測型制御系を開発した。

パン酵母の場合には、pH制御よりアンモニア消費速度が推定できる。アンモニア消費速度  $R(k)$  が正確に求めれば菌体の増殖速度  $R_x(k)$  は、

$$R_x(k) = (MW/\delta) R(k) \quad (3)$$

と求まる。ここで、 $(MW/\delta)$  はアンモニア消費1 molに対する菌体の増殖量である。実際のパン酵母培養系に対し本システムを適用して、pH制御と増殖速度を推定した結果を図6に示す。初期pHの値が約4.9の条件において、5分でpHは目標値5に整定されておりOn-off制御系の

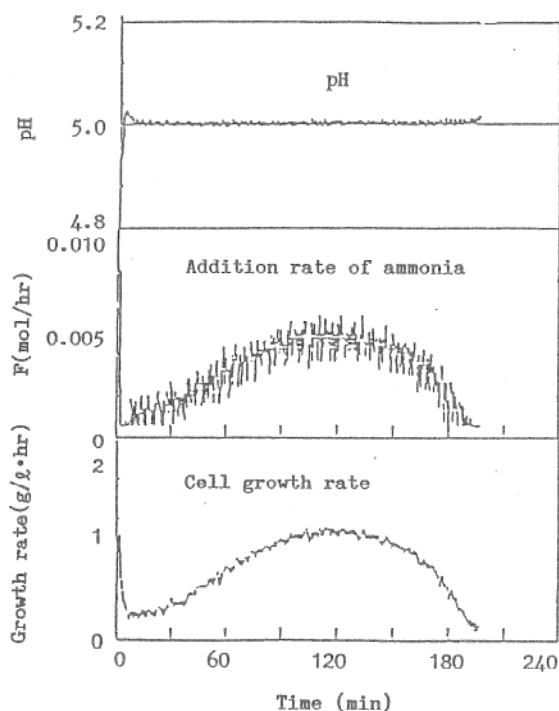


図6 外乱予測型制御によるpH制御と増殖速度の推定

実験と比較して制御性能は向上していることがわかった。また推定された増殖速度を拡張カルマンフィルターの観測値として用い、比増殖速度及び菌体濃度をオンライン推定した結果、菌体濃度のオンライン推定値とオフライン測定値は良好な一致を示し、菌体増殖速度および比増

殖速度を正確に推定できていることが分かった。

### 5. 生物プロセスシステム工学のすすめ

以上我々の研究の一端を簡単に紹介させていただいたが、この様な方え方—環境濃度制御から反応速度制御への転換—は必ずしも発酵プロセスだけを対象とせず広く生物プロセスに適用できるものと考えている。現に、ハイブリドーマや動物細胞による逆転写酵素生産に展開しようとして研究を進めている。またここで用いられる手法を体系化し、制御工学、情報工学で体系化された理論の単なる応用にとどまらず、もっと十分に発酵させて生物プロセスの設計制御諸問題の方法論に係わる工学、即ち生物プロセスシステム工学<sup>5)</sup>の体系化をはかりたいと考えている。

### 引用文献

- 1) T. Takamatsu, S. Shioya, Y. Okada: *Biotechnol. & Bioeng.* 27, 1675-1686 (1985).
- 2) 塩谷: *発酵と工業*, 45, 90-99 (1987).
- 3) Shioya S.: *Proc. of 4th-ICCAFT, Cambridge*, Sept. 25-29 (1988).
- 4) H. Shimizu, S. Shioya, K. Suga: *Biotechnol. & Bioeng.*, in press.
- 5) 高松, 塩谷: *発酵と工業*, 45, 2-11 (1987).