

氏名(本籍)	なかの かずのり (神奈川県)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	博甲第1,480号
学位授与年月日	平成8年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	農学研究科
学位論文題目	ビタミン B ₁₂ 生産のためのプロピオン酸菌の高密度培養プロセスの開発
主査	筑波大学教授 工学博士 松村正利
副査	筑波大学教授 工学博士 向高祐邦
副査	筑波大学教授 工学博士 田中秀夫
副査	筑波大学教授 農学博士 前川孝昭

論文の要旨

生産物阻害を回避する培養法の一つである灌流培養は、新鮮培地を連続的に供給し、膜分離などによって菌体をリアクター内に保存しながら培養液を抜取る、所謂希釈効果に基づいた方法である。このため、大量の新鮮培地が必要となると共に、膜のファウリング、大量の培養廃液の発生、さらに培地成分の利用効率の低下などの問題を引起す。

本研究は、このような灌流培養における問題を解決し、生産物阻害を伴う微生物の高密度培養の効率化を図ることを目的としている。実験対象として用いたプロピオン酸菌は、菌体内にビタミン B₁₂を蓄積するためその高濃度化が望まれるが、副産物として生産される酢酸およびプロピオン酸によって著しく増殖が阻害される。この阻害物質を選択的に除去するシステムを灌流培養に組み入れることと、高密度培養に適用し得る膜分離法の確立とによって新鮮培地使用量の大幅な低減と共に培養の高密度化を達成した。

まず、膜分離の改善について検討し、膜面上に形成される付着層を膜の回転によって抑制することを着想して回転型セラミックモジュールを新たに試作した。この膜分離装置の装置特性を検討し、通気および微生物から発生する微細ガスが遠心効果によって膜面上に集まり付着層の圧密化を防いで透過流束の向上に寄与することを見いだした。この膜分離装置を用い、希釈率 0.124 h^{-1} の条件でプロピオン酸菌の灌流培養を行った結果、半回分培養の10.3倍の 172 g/dm^3 を達成した。しかし、培養槽内液の約17倍にあたる 45 dm^3 もの培養廃液が生じた。

この培養廃液の発生量を軽減する方法として、膜透過液から有機酸を選択的に除去し、これを培養槽にリサイクルすることが考えられる。この選択的除去法として溶媒抽出、吸着について基礎的な比較検討を行い、最終的に活性炭を用いた吸着を採用した。各種有機酸の活性炭への吸着等温曲線を pH を変化させて測定した結果、非解離状態の有機酸の吸着量は、解離状態の有機酸に比べて遥かに高いことが明らかになった。また、活性炭充填塔の破過曲線のシミュレーションについても試みたが、多成分系であり置換吸着が起こること、また塔内に pH 濃度分布が発生するなどによって正確な予測が困難であることが判明した。しかし、充填カラム出口の pH 変化がプロピオン酸の破過と連動していることを実験的に見だし、この pH モニタリングによってカラム交換を行うこととした。以上の基礎的検討結果に基づいて、膜透過液の pH をカラム入口で酸性にして処理し、出口で再び中性に戻して培養槽にリサイクルさせるという方法をとることとした。この選択的除去システムを備えた灌流培養によって、培養廃液量は前回の1/3の 14.3 dm^3 で 157 g/dm^3 の菌体濃度を得、初期の目的を達成した。

審 査 の 要 旨

灌流培養は、生産物阻害を伴う発酵の生産性を改善する手法として汎用されている。

しかし、この方法は新鮮培地による希釈という単純な原理に基づいたもので、大量の発酵廃液が発生する。また、生産物の濃度が低下し、生産物の精製において濃縮工程が必須となるなどの問題点が存在していた。本研究は、これらの問題点を阻害物質の選択的分離・濃縮というシステムを灌流培養に導入することによって解決したものである。さらに、膜分離に必ず付随する膜のファウリングという問題を、膜を回転させて膜面上に剪断応力を掛けることで解決し、新たな膜分離システムを提案した。これらの研究においては、培養工学のみならず化学工学の手法が使われており、普遍性の高い新たな灌流培養プロセスが構築された。得られた培養結果は、従来のビタミン生産性を数十倍も改善させるもので高く評価できる。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。