

氏名(本籍) 佐藤誠吾(東京都)

学位の種類 農学博士

学位記番号 博乙第448号

学位授与年月日 昭和63年3月25日

学位授与の要件 学位規則第5条第2項該当

審査研究科 農学研究科

学位論文題目 好気培養における加圧の効果と応用

主査 筑波大学教授 農学博士 高橋 穰 二

副査 筑波大学教授 工学博士 片岡 廣

副査 筑波大学教授 工学博士 中村 以正

副査 筑波大学教授 農学博士 井上 嘉幸

論文の要旨

最近の発酵工業では、酸素供給の増加を目的として酸素ガスの使用、更には培養系の加圧が試みられるようになり、好気培養における加圧は次第に重要性を増している。

一方、培養装置も大型化の傾向にあり、廃水処理の曝気槽も深層曝気槽が開発され、深さ100m以上に及ぶものもある。従って、これらの装置では底部の圧力は5~10atmに達し、圧力とそれに伴う溶存酸素濃度の増加の影響を無視することはできない。

以上のように、好気培養における加圧の重要性が高まって来ているにもかかわらず、培養系における加圧の効果に関する知見は極めて少ない。

本研究は、酸素をはじめとするガス状基質の移動速度に及ぼす加圧の効果と、加圧に伴う溶存酸素濃度の増加が微生物の増殖、代謝並びに醗酵生産に及ぼす影響、およびそれらの応用について検討したものである。

まず、培養装置として最も代表的な通気攪拌槽を取り上げ、ガス状基質の移動速度に及ぼす圧力の影響を化学工学的な面から検討したところ、圧力が変化しても質量速度が一定となるように空気を供給した場合、酸素吸収速度 NO_2 は、圧力の0.4~0.8乗に比例して増加し、物質移動速度を増加させるための加圧の効果を明らかにすることが出来た。さらに、攪拌所要動力と通気に要する動力とを推算したところ、 NO_2 を増加させるためには攪拌速度あるいは通気速度を増加させるよりも加圧の方が動力的にも有利であることを明らかにした。

この結論を実際の培養系において立証するために、n-ブタンを唯一の炭素源とする *Pseudomo-*

nas butanovora の加圧培養を行い、加圧の効果を培養工学的な面から更に検討した。その結果、供給するn-ブタンの質量速度が一定という条件下で、菌体の生産性 ($g\text{-cell/L,hr}$) は圧力の0.4乗に比例して増加するという知見が得られたが、これはn-ブタンの気相から培養液への移動速度 ($g\text{-butane/L, hr}$) も圧力の0.4乗に比例して増加することを示すものであり、すでに得られた酸素の移動速度に関する化学工学的な検討の結果と非常に良く一致している。すなわち、質量速度一定という、あまり動力消費の増加しない条件で、加圧によりガス状基質の移動速度を増加させることにより菌体の生産性を向上させることが出来ることを培養工学的にも確認した。また、質量速度一定という条件で、生産性が圧力の0.4乗に比例して増加することは、基質の利用率もそれだけ向上することを意味し、加圧培養の経済的効果が大きいことを示すものである。

次に、代謝生産物の生成に及ぼす高溶存酸素濃度の影響を明らかにするために、代表的な好気性酸酵として知られているクエン酸酸酵を取り上げ、高溶存酸素濃度下における *Candida tropicalis* の菌体増殖およびクエン酸生産について検討した。その結果、クエン酸の蓄積量は溶存酸素濃度の増加に伴って増大し、その生産のための最適溶存酸素濃度は、従来全く試みられたことのない60ppmという高い値であることを見出したが、この値は加圧によってはじめて達成されるものである。一方、本菌は7ppm程度の通常（常圧、空気通気）の溶存酸素濃度下ではクエン酸の他に多量のイソクエン酸を副生するのが特徴とされているが、溶存酸素濃度の増加に伴ってその蓄積量は減少し、60ppm付近では殆ど蓄積されなかった。従って、従来イソクエン酸の除去が困難であった酵母によるクエン酸酸酵に対し、加圧による高溶存酸素濃度下での培養はクエン酸のみを蓄積させる有効な培養法である。

一方、本酵母の培養における菌体増殖の低下が40ppm以上の高酸素濃度域でとくに著しいことから、好気性微生物の増殖に及ぼす溶存酸素濃度の影響を論ずるには、40ppm以上の高酸素濃度域での具体的な知見が不可欠であることが知られる。更に、高酸素濃度域における増殖阻害現象を解明するためには、微生物の代謝、特にエネルギー代謝に及ぼす酸素濃度の影響に関する培養工学的な立場からの知見が必要になると考えられる。そこで、一般的な細菌である *Pseudomonas aeruginosa* を選び、その菌体収率、炭素収支および維持代謝などに及ぼす溶存酸素濃度の影響を、既に確立した加圧培養の技術を駆使して、具体的に検討した。その結果、基質の濃度あるいは種類にかかわらず溶存酸素濃度の増加に伴って菌体収率は減少し、特に、加圧培養によってはじめて達成される40ppm以上の高溶存酸素濃度において、菌体収率の減少が著しいことが明らかとなった。また、溶存酸素濃度が増加しても、単位菌体量当たりの基質消費速度は影響を受けずに一定であった。更に、基質炭素の収支に着目して、菌体収率の減少の原因を解明したところ、高溶存酸素濃度下では菌体の維持代謝が増加し、エネルギー獲得のために完全酸化される基質量が増加して菌体収率が減少するという機構を明らかにした。

以上の知見を廃水処理に適用すれば、菌体収率の減少は発生汚泥量の低減につながり、しかも単位汚泥量当たりの処理能力には変化がないという極めて好都合な結果が期待できると考えられる。そこで、廃水処理系の溶存酸素濃度を高めるための最も実際の装置は深層曝気槽であると考え、

深さ100mの深層曝気槽を想定して、その中における菌体の生育環境を通気攪拌培養槽で模擬して菌体収率に及ぼす影響を検討した。すなわち、通気攪拌槽の溶存酸素濃度をコンピューター・コントロールにより9～64ppmの範囲に1～2minの周期で変動させたところ、菌体収率は約30%低下することが確かめられ、深層曝気槽が汚泥量低減のために有効であることを立証した。

以上のように、本研究は、従来殆ど検討されていなかった好気条件下での加圧の効果について、十分な基礎的検討を行うと共に応用面における実例を示したものである。

審 査 の 要 旨

好気培養における加圧の効果について、培養系を加圧した場合に期待されるガス状基質の移動速度の増加と、加圧による溶存酸素濃度の増加が微生物の増殖、代謝並びに発酵生産に及ぼす影響について詳細に検討している。

まず、代表的な培養装置である通気攪拌槽について化学工学的な面から検討し、ガス状基質の移動速度を加圧により増加させることができ、動力消費の面からも加圧が有利であることを明らかにしている。さらに、n-ブタンを炭素源とする培養系で加圧培養を行い、実際の培養系においても加圧培養が極めて有効であることを示している。

一方、代表的な好気性発酵である *Candida* 属酵母によるクエン酸発酵を取り上げ、正クエン酸生産のための最適溶存酸素濃度は従来全く試みられなかった60ppmという高濃度にあり、1.7atmの加圧下で培養系に酸素ガスを供給することにより始めて達成されることを示した。また、活性汚泥中の代表的細菌である *Pseudomonas aeruginosa* の菌体収率は溶存酸素濃度の増加に伴って減少することを見出し、この増殖阻害現象を菌体のエネルギー代謝から詳細に解明している。更にこの知見に基づいて、深層曝気槽が汚泥量低減のために極めて有効であることを立証し、その実用性の根拠を明確にした。以上の研究は、従来殆ど検討されていなかった好気条件下における加圧の効果について、十分な基礎的検討を行うと共に、応用面における実例を示したものであり、得られた知見は好気培養、好気性バイオリクター、あるいは活性汚泥による好氣的廃水処理などにおける今後の技術発展に多いに役立つものである。

よって、著者は農学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。