

[生物工学会誌 第72巻 第3号 175-183. 1994]

電気透析による有機酸発酵液の有機酸の分離に及ぼす 諸因子の影響

張 書廷¹・小泉 淳一¹・松岡 浩²・戸田 清^{1*}東京大学分子細胞生物学研究所,¹ 西東京科学大学理工学部²¹〒113 東京都文京区弥生1-1-1²〒409-01 山梨県北都留郡上野原町2525

(平成5年8月18日受付 平成6年2月19日受理)

Factors affecting separation of organic acid from fermentation broth by electrodialysis.

SHU-TING ZHANG,¹ JUN-ICHI KOIZUMI,¹ HIROSHI MATSUOKA,² and KIYOSHI TODA^{1*}(Institute of Molecular and Cellular Biosciences, The University of Tokyo, Tokyo 113¹; Department of Bioscience, Nishi-Tokyo University, Uenohara-2525, Yamanashi 409-01²) Seibutsu-kogaku 72: 175-183, 1994.

To predict the conditions needed for a high rate of product separation by electrodialysis in an organic acid fermentation, the effects of certain factors on the ion flux of acetic acid through an ion exchange membrane were investigated using a model fermentation broth containing acetic acid and sodium acetate. The factors examined were the flow rate, acetic acid concentration and pH of the feed solution and the glucose concentration. The ion flux decreased greatly with a decrease of the flow rate in the electrodialysis compartment to less than 0.02 m/s. The maximum flux was obtained when the feed pH was near $pK_a + 1$. The experimental relationships are represented by two equations which were developed for each pH range higher and lower than a critical value, considering the dissociation and electrodialysis of acetic acid and diffusion of the hydroxyl ion. The superiority of an electrodialysis culture system with the addition of alkali to one without alkali addition is discussed.

有機酸発酵においては、その発酵の進行に伴い、生産物である有機酸濃度が増加し、菌の増殖速度および酸生成速度が阻害される事象は多く報告されている。¹⁻⁶⁾ 近年、菌体の増殖および酸生成速度に対する有機酸の阻害を軽減すると同時に生産物を濃縮回収できる培養プロセスとして、有機酸の発酵生産プロセスの中に、電気透析による生産物の分離操作を組み込み、生産された有機酸を発酵工程中に分離除去する電気透析培養法が注目されている。⁵⁻¹¹⁾ この培養プロセスでは発酵槽から取りだした液から目的の有機酸を電気透析で分離するのみならず、pHが上昇した透析残液を発酵槽に還流することにより培養液の有機酸濃度およびpHを一定値に維持するシステムがほとんどであ

る。⁵⁻¹²⁾ このようなシステムを全体として最適に制御するためには、まず有機酸イオンの透析速度および電流効率に及ぼす諸因子の影響を明らかにしておくことが欠かせない。

これまでの電気透析に関する研究は脱塩、海水濃縮¹³⁻¹⁶⁾を目的とする動力的な研究が大部分であった。有機酸の電気透析に関する理論的研究は多くないが次のような研究報告がある。妹尾ら¹⁷⁾は弱酸がイオン交換膜を透過する速度がpHに依存することを指摘した。K. Leeら¹⁸⁾はイオン交換膜を透過するアミノ酸の電気化学速度論に関する研究を報告し、特に両性有機酸イオンの透過速度のpH依存性とイオン膜の諸特性について検討した。最近、Weierら¹⁹⁾により無機塩を含む有機酸発酵液からプロピオン酸および酢酸の回収およびその効率について報告されている。

* 連絡先, Corresponding author.

菌体の培養と電気透析を組み合わせた実際の電気透析培養系における問題点として次の3点があげられる。

(1) 電気透析残液が還流液として発酵液に添加されるので菌体の活性が影響を受ける。

(2) 透析室の流路上で pH が変化²⁰⁾ し、有機酸の透析速度および透析液の成分に影響を及ぼす。

(3) 電気透析操作の最適 pH と発酵の最適 pH とが一致しない場合は両者を整合させる必要がある。

このような制約の下で、電気透析培養法における電気透析の最適な操作条件を決めるためには、透析室の流動状態、液滞留時間、有機酸濃度および糖濃度ならびに供給液 pH など多くの因子の相互関係を明らかにしておくことが重要である。この場合、イオン交換膜の種類および操作方法によらず簡単に測定できるパラメーターを用いて電気透析速度と透析液の状態 (pH, 有機酸濃度など) を推定および制御できることが望ましい。

著者らは有機酸発酵を対象とした系列研究として、解離平衡およびイオン移動に基づいた理論的な解析により電気透析室の pH が流路に沿って急激に上昇する現象およびこの現象が起こる供給液の pH に臨界値が存在することを予測し、酢酸およびそのナトリウム塩の混合液をモデル発酵液として用いた実験により確かめた。²⁰⁾ さらに、リン酸塩および酢酸の混合液をモデル発酵液に用いてリン酸塩の損失および透析残液の pH 変化への影響を検討した。²¹⁾ 本研究では酢酸およびそのナトリウム塩の混合液をモデル発酵液として、電気透析による酢酸イオンの分離特性について定量的な評価を行った。すなわち、電気透析速度および電流効率に及ぼす透析原液の有機酸濃度および pH の影響、液の流速の影響ならびにその総合関係について検討を行った。また、グルコースを添加した模擬液を用いてその影響を調べた。さらに、これらの結果に基づき、電気透析培養の操作方法について考察を加えたので報告する。

実験方法

実験装置 (Fig. 1) および実験方法は前報²⁰⁾ と同じである。電気透析モジュールは1枚の陽イオン交換膜 (K-101, ポリプロピレン織布, 電気抵抗 $1.8\text{--}2.3\ \Omega\cdot\text{cm}^2$, 電気伝導度 $9.6\text{--}12.3\ \text{mS/cm}$, 膜厚 $0.21\text{--}0.23\ \text{mm}$, 輸率 0.99 以上, 耐薬品性, 耐アルカリ性) および2枚の陰イオン交換膜 (A-201, ポリプロピレン織布, 電気抵抗 $3.6\text{--}4.2\ \Omega\cdot\text{cm}^2$, 電気伝導度 $4.8\text{--}6.6\ \text{mS/cm}$,

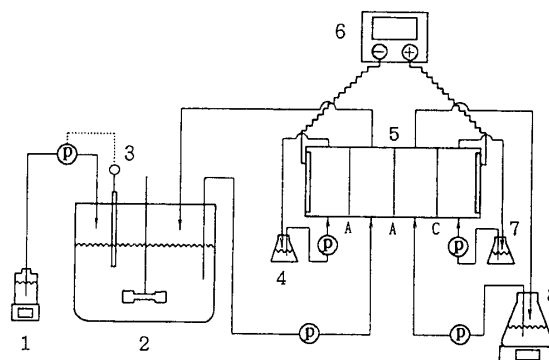


Fig. 1. Schematic diagram of experimental setup for electrodialysis. 1, Glacial acetic acid; 2, fermentor; 3, pH probe; 4, NaOH solution; 5, electrodialysis module; 6, DC power supply; 7, H_2SO_4 solution; 8, permeate solution. A, Anion exchange membrane; C, cation exchange membrane.

膜厚 $0.22\text{--}0.24\ \text{mm}$, 輸率 0.99 以上, 耐薬品性, 耐アルカリ性) を用い、陰極室, 透析室, 回収室および陽極室の4室からなる。透析室は幅 $0.7\ \text{cm}$, 断面積 $0.84\ \text{cm}^2$, 有効長さ $121\ \text{cm}$ の屈曲路形状である。電極間の距離は $21.6\ \text{mm}$ である。イオン交換膜はアプレックス (旭化成工業), 有効膜面積 $150\ \text{cm}^2$ である。

モデル発酵液に酢酸と酢酸ナトリウムの混合液を用いた。電気透析に定電圧方式を採用し、電気透析モジュールの両極間電圧は $15\ \text{V}$ で、電流値は $1.5\text{--}13.9\ \text{A}$ の範囲で変化した。温度は 30°C で一定とした。実験および結果の解析には定常条件での連続式を採用した。すなわち、電気透析中、pH コントローラーを用いて純酢酸を添加し、モデル液の pH および酢酸濃度を一定の値に維持した。電気透析装置の陰極から陽極までのイオン移動経路において、透析室以外の部分がイオン移動の律速因子にならないように、陰極液および陽極液のイオン濃度を透析原液の全酢酸濃度より $0.1\ \text{mol/l}$ 高く設定し、また回収液に NaCl を添加し、透析原液よりイオン濃度を $0.1\ \text{mol/l}$ 高くした。なお、陰極室, 陽極室および回収室の液循環速度は $6.3 \times 10^{-2}\ \text{l/s}$ とした。電気透析の実験は回収室と透析室の有機酸濃度差による拡散が電気透析に対する寄与率を 1% 以下に抑えられる条件に設定して行った。すなわち、酢酸の添加で回収液の初期酢酸濃度を $20\ \text{g/l}$ にして、最高濃度を $60\ \text{g/l}$ 以下に制御するように回収液を更新した。

酢酸イオンの電気透析流束 J_A は回収液の酢酸濃度、回収液の重量増加および透析時間から算出した。電流効率 η は測定した J_A とその時の単位面積あたりの電流

密度 i から、次のように算出した。

$$\eta = FJ_A / i \quad (1)$$

結果および考察

酢酸の電気透析速度に及ぼす液流速の影響 0.3 mol/l の酢酸—酢酸 Na 溶液 (pH 4.8) を原液に用いて電気透析を行った。透析室流通液の流速を7段階に変化させ、定常状態における有機酸イオンの流束 J_A 、電流効率 η に及ぼす液の流速 u の影響を調べた。結果は、Fig. 2 に示すように流速 u の増加につれて酢酸イオンの流束 J_A は増加するが、 u の値が 0.09 m/s 以上になるとほぼ一定になった。これは流速の増加につれて膜面近傍の液境膜の抵抗が減少し、イオン移動の律速因子でなくなるためである。電流効率 η も u の増加に従って増加し、 u が 0.07 m/s 以上では 0.95 以上の 1.0 に近い値になった。Fig. 2 に示すように、流速が 0.02 m/s 以下ではイオン流束 J_A および電流効率 η がともに顕著に低下する傾向を示した。これは低い液流速では透析室中の液通路の pH はほとんどアルカリ性の高い値になり、²⁰⁾ 電流の一部が OH^- により運ばれるため酢酸イオンの透析に関する電流効率が低くなったと考えられる。そこで、電気透析培養においてクロスフローろ過モジュールにより菌体をろ過する場合でろ過膜の表面に菌体のケーキ層が形成してろ過流束が低くなる場合には、透析室の流速が大幅に低下して電流効率およびイオン流束が低下するのを防ぐため、透析室の流出液を一部だけ発酵槽に戻し、残りは透析室流入液と混合し透析室内の流速を低下させることなく還流するシステムが薦められる。このようなシステムにより、発酵速度が高い期間において、ろ過液の流量が低下した場合でも透析室の液循環流量を一定の値

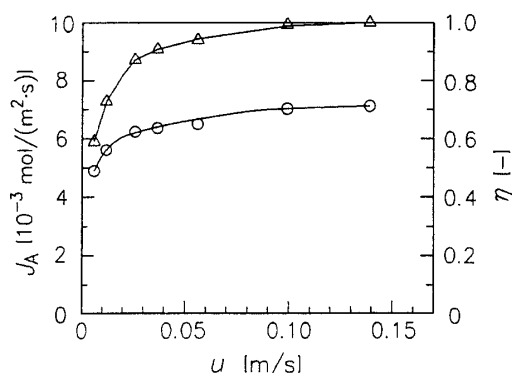


Fig. 2. Effect of velocity of liquid through dialysis compartment u on J_A and η . ($C_{ti}=0.3$ mol/l; $\text{pH}_i=4.8$). Symbols: $\circ$, J_A ; Δ , η .

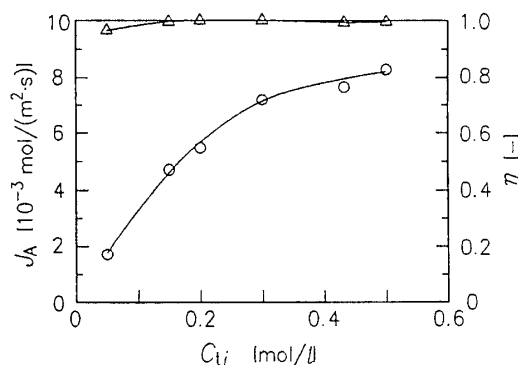


Fig. 3. Relationship between J_A , η and C_{ti} ($u=0.119$ m/s; $\text{pH}_i=4.8$). Symbols: $\circ$, J_A ; Δ , η .

に維持することができるので透析速度の低下による培養液の pH の低下を防ぐことが可能になる。¹²⁾ また、透析室の流路にスパーサーを挿入して液流動を促進する構造も有効な方法であると考えられる。

酢酸濃度の影響 Fig. 3 に透析原液の全酢酸濃度 C_{ti} の J_A , η に及ぼす影響を示す。透析原液の流速が有機酸イオン流束 J_A に影響を及ぼさない u が 0.119 m/s の条件で実験を行った。酢酸イオン流束 J_A が酢酸濃度の増加につれてほぼ直線的に増加し、濃度が 0.3 mol/l 以上になると増加が緩やかになる傾向を示した。電流効率 η は酢酸濃度が 0.15 mol/l 以上ではほぼ 1 に近い値であった。酢酸濃度が 0.05 mol/l の濃度においても電流効率が 0.95 以上で、流速の影響がない条件では低い有機酸濃度でも高い電流効率で電気透析が行われることがわかった。

透析原液 pH の影響 透析原液の pH_i を 2.5–13 の範囲にわたって 9 段階に変えて酢酸イオン流束 J_A 、電流効率 η に及ぼす影響を調べた。結果をそれぞれ

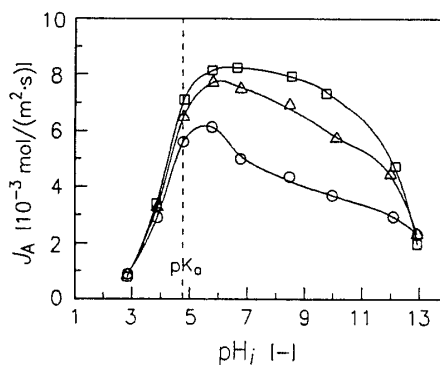


Fig. 4. Relationship between J_A and pH_i in various velocities of liquid through dialysis compartment ($C_{ti}=0.3$ mol/l). Symbols: $\circ$, $u=0.012$ m/s; Δ , $u=0.056$ m/s; $\square$, $u=0.139$ m/s.

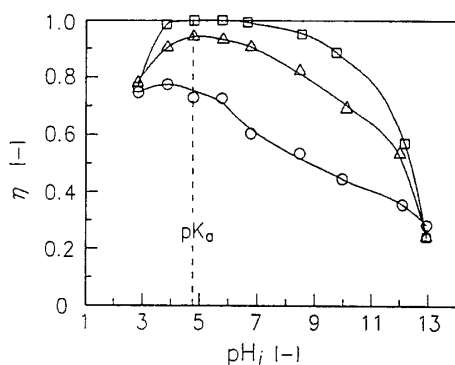


Fig. 5. Relationship between η and pH_i in various velocities of liquid through dialysis compartment ($C_{ii}=0.3 \text{ mol/l}$). Symbols: $\circ$, $u=0.012 \text{ m/s}$; Δ , $u=0.056 \text{ m/s}$; $\square$, $u=0.139 \text{ m/s}$.

Fig. 4 と Fig. 5 に示す。

電気透析における酢酸イオン流束 J_A と pH_i の関係は、Fig. 4 に示すように $\text{pK}_a (=4.8)$ より低い pH_i では pH_i の増加に従って J_A が増加するが、 pK_a を超えると J_A の増加が緩やかになり、 pH_i が 6 付近で最大値が得られた。すなわち、供給液の pH の値が $\text{pK}_a + 1$ に近い条件で透析速度の最大値が得られ、アミノ酸、ホウ酸の場合¹⁷⁾と一致した。この結果は透析原液の流速が 0.139 m/s の場合では pH_i が 6 から 8 まで J_A はほぼ一定の値を維持したが pH_i が 11 以上になると減少した。 $u=0.012, 0.056 \text{ m/s}$ の低い液流速の場合は pH_i が 6 より大きくなるに伴って J_A が減少した。 pH_i の値によって J_A の値が変化することは、解離有機酸イオン濃度および水酸基イオン濃度が pH により変化することに基づくと考えられる。解離酢酸イオン濃度 C_A は Eq. (2) に示すような pH 依存性を示す。

$$C_A = \frac{C_i}{1 + 10^{(\text{pK}_a - \text{pH})}} \quad (2)$$

ここで、有機酸イオン濃度 C_A と非解離酸 C_{HA} と全濃度 C_i との関係は $C_i = C_A + C_{HA}$ である。式に示されるように C_A は pH の増加に従って増加するが、pH 6.0 以上ではほぼ一定になる。したがって、電気透析においては、pH 6.0 以下では pH の増加による解離有機酸イオン濃度の増加に従って電気透析速度が増加するが、さらに pH が 8.0 以上になると透析室の OH^- イオン濃度が増加して酢酸イオンと競争的に透析され J_A の増加が抑制される。すなわち、 pK_a より低い pH_i では解離している有機酸イオン濃度が低いいためイオン流束が低く、 pK_a より高いアルカリ性の pH_i では OH^- の濃度が高いため電流の一部分が

OH^- により運ばれるので有機酸イオンの流束が低くなる。

電流効率 η については、Fig. 5 に示したように J_A と同様な傾向を示したが液流速 0.139 m/s において、 pH_i が 3.8–7 の間ではほぼ一定で最大値が得られることがわかった。 pH_i の低い条件では電流効率に及ぼす pH_i の影響は酢酸イオン流束 J_A より小さいが pH_i の高い場合では OH^- の増加により電流効率が急速に低下することが認められた。

以上、 pH_i が pK_a より低い範囲では J_A および η とも液流速によらず、ほぼ等しい値を示したが、 pH_i が pK_a より高い範囲では J_A および η とも液流速の減少に従って低下する傾向が示された。これは液流速の減少に従って透析室における液流路上のアルカリ性の部分が増加し、透析室の pH も高くなり、 OH^- により運ばれた電流が増加したため²⁰⁾である。

これらの結果より、電気透析培養において菌体増殖の最適 pH 範囲が pK_a の近傍にある場合では、 pH_i をその範囲で高い値側に設定した方が透析速度を上げることに有利であるが、最適 pH 範囲が pK_a より高い場合では、逆に pH_i をその範囲で低い値側にコントロールした方が電流効率および透析速度を高い値に維持するに有利であることが示唆された。この場合、発酵槽と電気透析モジュールの間に pH を調整するための混合槽を設けることになる。また、pH の範囲により、液流速が電気透析効率をコントロールできる重要な操作因子となることが示された。

酢酸濃度と pH の複合的な影響 次に、さらに有機酸イオン流束 J_A および電気透析効率 η に及ぼす pH_i と C_{ii} の複合的な影響を上記のデータを用いて検討した。Eq. (2) の pH と C_{ii} に、それぞれ透析室の入口と出口の pH の対数平均値および C_{ii} (高い液流速の条件では透析室入口と出口の酢酸濃度の差が小さいので入口の濃度で平均濃度を近似できる) を代入して透析室の平均酢酸イオン濃度 C_A を算出し、この C_A に対して液流速の影響を受けない u の範囲での J_A と η の値をプロットした結果を Fig. 6 に示す。図からわかるように、透析原液中の酢酸濃度と pH が異なっても、酢酸イオン濃度と酢酸イオン流束 J_A および電流効率 η の関係は同一の曲線で表すことができた。すなわち、有機酸およびその共役塩を含む混合液を電気透析する際、電気透析速度が有機酸のイオン濃度に依存することが明らかである。

電気透析速度に及ぼすグルコース添加の影響 実

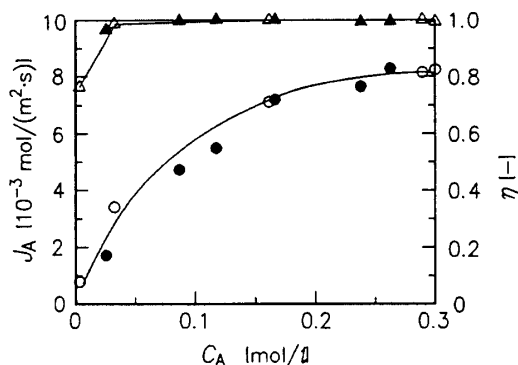


Fig. 6. Relationship between J_A , η and acetate ion concentration for various values of pH_i and C_{ti} . Open symbols: $\text{pH}_i=2.83\sim 6.66$ ($C_{ti}=0.3$ mol/l). Closed symbols: $C_{ti}=0.05\sim 0.5$ mol/l ($\text{pH}_i=4.8$). Symbols: ○, ●: J_A ; △, ▲: η . ($u>0.09$ m/s).

際の培養においては、培地中に多種の成分が含まれており、これらが電気透析速度に影響を与えている可能性が存在する。そこで、培地にもっとも多く含まれる成分であるグルコースを、濃度を変えて添加し、電気透析速度に対する影響を調べた。Fig. 7に示すようにグルコース濃度が40 g/lまではほとんど影響がないが、それ以上の濃度では、電気透析速度にやや影響が示された。また、50 g/l以上のグルコース濃度では、流速が高い場合は低流速の場合よりイオン流束が高いことが示された。これは高流速では、境界膜の影響が小さいためであると考えられる。ただし、80 g/lという高いグルコース濃度で、また低流速条件であっても、グルコースを添加しない場合に比べて酢酸の透析速度の低下はたかだか15%以下であることから、通常の回分培養の有機酸の生産速度が速い培養中期および後期におけるグルコース濃度では電気透析速度に及ぼす糖濃度の影響は考えなくてもよいことが示唆された。

電気透析速度と諸因子の相関関係 前報²⁰⁾では

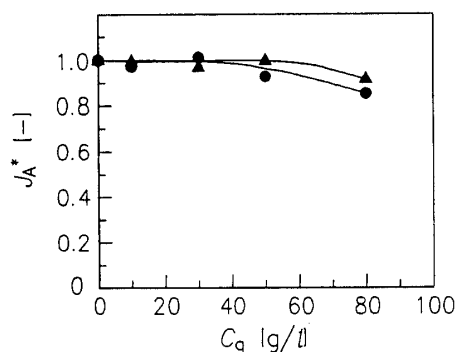


Fig. 7. Effect of glucose concentration C_g on J_A ($\text{pH}_i=4.8$). Symbols: ●, $u=0.012$ m/s; ▲, $u=0.139$ m/s.

イオン移動および解離平衡に基づき、電気透析モジュールの挙動をよく説明できるモデル式を導出し、実験的に検証した。そのモデル式により、透析室出口の pH (pH_e) が透析原液の pH (pH_i) に比べていちじるしく上昇する現象が存在することを示し、これも実験的に検証した。この現象が起こる透析原液の pH を供給液 pH の臨界値とすれば、この臨界値が存在することを見いだした。その理論解析により、前記各因子間の相互関係を透析原液の pH (pH_i) が臨界値以下および以上の範囲ではそれぞれ一つの式にまとめて表した(前報²⁰⁾の Eq. (8), Eq. (13))。また、その式は、 pH_e が急激に上昇する遷移領域の pH_i の近傍以外では実験結果とよく一致することが確認された。前報²⁰⁾の Eq. (8) および Eq. (13) を書き換えると、Eq. (3) および Eq. (4) が得られる。

$$J_A = \frac{QC_{ti}}{S} \cdot \frac{10^{\text{pH}_e - \text{pH}_i} - 1}{10^{\text{pH}_e - \text{pH}_i} + 10^{\text{pH}_e - \text{pK}_a}} \quad (3)$$

$$J_A = \frac{QK_w}{S} (10^{\text{pH}_e} - 10^{\text{pH}_i}) \quad (4)$$

Eq. (3) および Eq. (4) は、それぞれ透析原液の pH が臨界値以下および以上の領域における有機酸およびその塩の混合液の電気透析において、還流液の pH (pH_e) と透析液流量 (Q)、イオン交換膜面積 (S)、透析原液の有機酸濃度 (C_{ti}) ならびに pH (pH_i)、および有機酸の解離平衡定数 (K_a)、水のイオン積 (K_w) の諸因子と有機酸イオンの電気透析速度 (J_A) との相関関係を定量的に示したものである。

電気透析培養においては菌体増殖に対する有機酸阻害を軽減するために、培養液中の有機酸濃度を低く維持することが望ましい。このような場合に最大の透析速度を得るには陰極から陽極までのイオン移動経路において、透析室以外の部分が律速段階にならないようにする必要がある。陰極液と陽極液のイオン濃度および回収液のイオン濃度を透析原液の有機酸イオン濃度より高く、また、陰極室、陽極室および回収室の液循環速度を透析原液の循環速度より高く設定することが有効である。このような条件では、培養の最適 pH における透析室の OH^- 濃度に比べて陰極室の OH^- 濃度がきわめて高くなるので、陰極室から透析室に拡散する OH^- により還流液の pH (pH_e) の上昇を招く。Eq. (3) に示すように透析速度に及ぼす pH_e の影響がきわめて大きい(10の指数関係)ので、 pH_e を用いて J_A を推定する時、この OH^- の拡散による pH_e の増加を考慮する必要があると考えられる。そこで陰極室

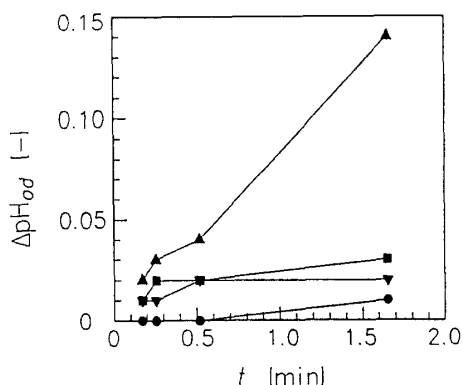


Fig. 8. Increase (ΔpH_{od}) of pH_c against pH_j owing to transfer of OH^- from cathode compartment to dialysis compartment by diffusion. Symbols: ●, $\text{pH}_j=3.86-3.89$; ▲, $\text{pH}_j=4.37-4.38$; ■, $\text{pH}_j=4.73-4.76$; ▼, $\text{pH}_j=5.86-5.93$.

から透析室に拡散する OH^- による透析還流液の pH の変化を実験により調べた。電圧をかけないこと以外 Fig. 2 に示したのと同じ条件で透析室出口と入口の pH の差 (ΔpH_{od}) と透析液の滞留時間 t の関係を供給液の pH (pH_j) をパラメーターにとって Fig. 8 に示した。図からわかるように (ΔpH_{od}) が pH_j と t の増加に従って増加する傾向が示された。特に pH_j が 5.5 以上で滞留時間が長い条件で顕著であることが明らかになった。

この拡散の影響による透析還流液の pH_c の増加を考慮し、上記の実験結果を再整理して、 J_A と各操作因子間の相関関係を Eq. (5) を用いて pH_j が臨界値以下にある範囲での相関関係を示したのが Fig. 9 である。

$$J_A = \xi C_{ti} Q / S \quad (5)$$

ここで、

$$\xi = (10^{\text{pH}_e} - \Delta\text{pH}_{od} - \text{pH}_i - 1) / (10^{\text{pH}_e} - \Delta\text{pH}_{od} - \text{pH}_i + 10^{\text{pH}_e} - \Delta\text{pH}_{od} - \text{pK}_a) \quad (6)$$

J_A の実測値は有機酸発酵液の電気透析のパラメーター $QC_{ti}\xi/S$ と良好な線形相関関係を示した。

同様に pH_j が臨界値以上にある範囲での J_A と各操作因子間の相関関係を示したのが Fig. 10 である。 J_A の実測値が有機酸発酵液の電気透析のパラメーター $QK_w(10^{\text{pH}_e} - 10^{\text{pH}_j})/S$ と良好な線形相関関係を示した。図からわかるように J_A の実測値は Eq. (4) の関係をほぼ満足するがやや高めの傾向を示しているとも見える。これは透析原液の pH が高い条件では透析室の pH がほとんど 11 以上である²⁰⁾ ので透析室と回収室の OH^- 濃度差が大きく、透析室から回収室に OH^- が

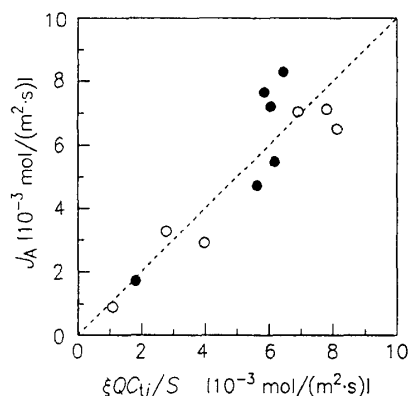


Fig. 9. Acetate ion flux J_A in electrodialysis at pH lower than a critical value. Open symbols: $\text{pH}_j=2.83-5.79$ ($C_{ti}=0.3 \text{ mol/l}$). Closed symbols: $C_{ti}=0.05-0.5 \text{ mol/l}$ ($\text{pH}=4.8$). ($u=0.012-0.139 \text{ m/s}$). Line: ----, calculated by Eq. (5).

拡散移動して見かけ上 pH_c が低くなるためであると考えられる。この実測値を結ぶ回帰式は Eq. (7) である。

$$J_A = f Q K_w (10^{\text{pH}_e} - 10^{\text{pH}_j}) / S + B \quad (7)$$

ここで、 $f=1.04$, $B=0.00041$ 。

Eq. (5) および Eq. (7) はそれぞれ透析原液 pH_j が臨界値以下および以上の条件での浸透の影響も考慮した電気透析過程における各因子間の相関関係である。透析原液の全有機酸濃度 C_{ti} 、培養液の pH_i 、電気透析面積 S および透析原液の供給速度 Q 、電気透析室出口の pH_e 、浸透による透析室出口 pH の増分 ΔpH_{od} および解離平衡定数 pK_a が分かれば電気透析における有機酸イオン流束 J_A を Eqs. (5), (7) を用いて算出することができる。

アルカリ添加電気透析培養法と無添加法の比較

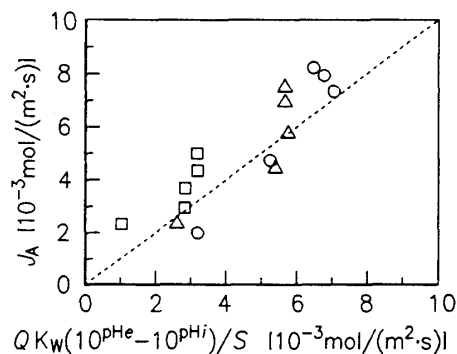


Fig. 10. Acetate ion flux J_A in electrodialysis at pH higher than a critical value. Symbols: ○, $u=0.139 \text{ m/s}$; △, $u=0.056 \text{ m/s}$; □, $u=0.012 \text{ m/s}$. Line: ----, calculated by Eq. (4).

電気透析培養に関する既往の研究において、培養中にアルカリを添加しないで直接電気透析により培養系のpHを調節する方式（直接電気透析法）⁵⁻⁸⁾と、回分培養の初期にアルカリの添加で培養系のpHを調節し、有機酸濃度が所定値まで増加した時点でアルカリの添加を停止し、電気透析を開始する方式（アルカリ添加電気透析法）^{6,9,10,12)}が報告されている。

この二つの電気透析培養法について、無機塩などの影響を無視すれば培養系の解離有機酸イオン濃度は下記の式により表すことができる。直接電気透析培養系（付記1参照）では

$$C_{A1} = 10^{-\text{pH}} \quad (8)$$

アルカリ添加電気透析培養系（付記2参照）では

$$C_{A2} = C_b + 10^{-\text{pH}} \quad (9)$$

Eq. (8) と Eq. (9) を比較して分かるようにアルカリ無添加の直接電気透析培養系では解離有機酸イオンの濃度は培養液のpHのみの関数であり、培養の最適pHにより決まり、一定である。一般に、有機酸発酵の最適培養pHに相当する有機酸イオン濃度は非常に低い。（たとえば、乳酸発酵¹²⁾の最適pH 5.5で C_{A1} は0.00028 g/lであり、酢酸発酵⁷⁾の最適pH 3.8で C_{A1} が0.0095 g/lである）。これに対して、アルカリ添加電気透析培養系においては解離有機酸のイオン濃度は培養液のpHとアルカリ添加量の関数である。したがって、アルカリの添加量により解離有機酸イオン濃度を適当な値に調整することが可能である。

培養液の有機酸濃度は次式に従って増加する。

$$C_{A1} = \int_0^t \pi x dt \quad (10)$$

$C_{A1} < C_{A2}$ であるから、最適培養pHに維持するためには直接電気透析培養系では電気透析の開始をアルカリ添加系より早めに行わなければならない。

この電気透析を開始する条件が違ふことは次のような点で違った結果を生じる。

(1) 菌体増殖に対するダメージ 電気透析培養ではイオン交換膜の汚染および透析液のアルカリ性化による菌の死滅¹¹⁾を避けるため菌体をろ過したろ液だけを透析室に通ずることにしている。しかし、菌体の一部がろ過膜面にケーキ層として捕集されて発酵槽の菌体濃度が減少し、ろ過操作におけるせんだん力や酸欠のストレスを受けて菌体の活性が低下する。¹²⁾ アルカリ無添加電気透析培養系のように、回分培養の初期

で菌体濃度が低い条件で電気透析操作を開始すると菌体が長期間にわたってダメージを受ける。

(2) リン酸塩などの栄養イオンの損失 同電荷の多種類のイオンが共存する場合は各イオンの濃度に対応して透析速度が増加する。²¹⁾ アルカリを添加しない培養系では全有機酸濃度が低い条件で電気透析を行うので培養液からのリン酸塩イオンおよびアミノ酸などの損失速度がアルカリ添加系より速い。^{6,21)}

(3) 電気透析速度 アルカリを添加しない条件では電気透析の速度が小さいが、アルカリを添加した場合では有機酸イオン濃度の増加により電気透析速度が大きくなる。

(4) 培養操作の調整性能 電気透析培養系をシステム全体としての最適な条件にコントロールするためには発酵の最適条件と電気透析の適切な条件を整合する必要がある。したがって、両操作条件を分割して調整できる性能が必要である。上述したように直接電気透析培養法よりアルカリ添加電気透析培養法は操作条件を調整する性能に優ることが明らかである。

(5) 菌体活性に対する有機酸の阻害 培養液が最適なpHに維持されている場合、菌体活性に及ぼす有機酸の阻害作用は菌種と有機酸の種類により異なる¹⁻⁴⁾が、一般に全有機酸濃度により阻害作用が強まることが考えられる。したがってアルカリ添加電気透析培養法では有機酸の阻害が無添加系より高くなる。アルカリ添加電気透析培養法では、有機酸濃度を決めるのに菌体の特性などの諸因子を総合的に考慮する必要がある。

以上述べたことよりアルカリ添加電気透析培養法は電気透析だけでなくシステム全体の効率を高めるのに有効である。

要 約

酢酸およびその共役塩を含む混合液を有機酸発酵のモデル溶液として電気透析を行い、酢酸の透析速度および電流効率に及ぼす装置特性、操作条件の影響および操作因子（有機酸濃度、pH、透析室流量、透析膜面積）の総合的な影響を検討し、次の知見が得られた。

(1) 透析室循環液の流速が0.09 m/s以下では流速の増加に従って電気透析速度および電流効率が増加し、それ以上ではほぼ一定になった。また、流速が0.02 m/s以下になると、流速の減少につれ透析速度が顕著に低下することがわかった。

(2) 透析速度は供給液の全有機酸濃度の増加に従っ

て増加することが確認された。また、透析原液の pH の影響が大きく、有機酸の pK_a よりほぼ 1 だけ大きい pH において透析速度の最大値が得られ、この関係は解離により生じた有機酸イオン濃度により決定されていることが確認された。

(3) 電気透析速度と各因子間の相関関係を、透析供給液の pH が臨界値より小さい範囲と大きい範囲に分けて、二つの式で表せることを示した。また、このことを実験により確かめた。

(4) 通常の発酵条件において、透析速度に及ぼす培地の主な成分である糖分の影響は考えなくてもよいことが示唆された。

(5) これらの結果に基づいて、アルカリを添加しない直接電気透析培養法とアルカリ添加電気透析培養法を、菌体増殖に対するダメージ、無機イオンの損失、電気透析速度、培養操作の調整性能、有機酸の阻害などの点に関して比較し、アルカリ添加電気透析培養法がシステム全体の効率を高めるのに有効であることを明らかにした。

ここで得られた結果は電気透析培養システムの設計および操作条件の設定に役立つと期待される。

付 記

1. Eq. (8) の導出 アルカリを添加しない培養液（他の無機塩などの関与を無視）において一塩基弱酸の全有機酸濃度が C_{t1} mol/l の溶液では Eqs. (A-1), (A-2) の関係が成り立つ。

$$C_{A1} = C_H - C_{OH} \quad (A-1)$$

$$C_{t1} = C_{HA} + C_{A1} \quad (A-2)$$

ゆえに

$$C_{HA} = C_{t1} - C_H + C_{OH} \quad (A-3)$$

有機酸の解離平衡定数は

$$K_a = \frac{C_H C_{A1}}{C_{HA}} \quad (A-4)$$

Eq. (A-4) に Eqs. (A-1), (A-3) を代入すれば Eq. (A-5) の関係が得られる。

$$K_a = \frac{C_H(C_H - C_{OH})}{C_{t1} - C_H + C_{OH}} \quad (A-5)$$

有機酸発酵の最適 pH は一般に酸性側であり、 C_H に比べて C_{OH} を無視できるので Eq. (A-5) を整理すれば Eq. (A-6) となる。

$$C_{t1} = (10^{pK_a - pH} + 1) \cdot 10^{-pH} \quad (A-6)$$

Eq. (A-6) を Eq. (2) に対応する関係式に代入して整理すれば Eq. (8) が得られる。

2. Eq. (9) の導出 アルカリ添加電気透析培養系においては、一塩基弱酸とその強塩基が共存しているので Eqs. (A-7), (A-8) が成り立つ。

$$C_{A2} = C_b + C_H - C_{OH} \quad (A-7)$$

$$C_{t2} = C_{HA} + C_{A2} \quad (A-8)$$

ゆえに

$$C_{HA} = C_{t2} - C_b - C_H + C_{OH} \quad (A-9)$$

Eqs. (A-7), (A-9) を Eq. (A-4) に対応する解離平衡式に代入すれば Eq. (A-10) が得られる。

$$K_a = \frac{C_H(C_b + C_H - C_{OH})}{C_{t2} - C_b - C_H + C_{OH}} \quad (A-10)$$

有機酸発酵の最適 pH では C_H に比べて C_{OH} を無視できるので Eq. (A-10) を整理すれば Eq. (A-11) が得られる。

$$\begin{aligned} C_{t2} &= C_b + C_H + C_H(C_b + C_H)/K_a \\ &= C_b + 10^{-pH} + 10^{pK_a - pH}(C_b + 10^{-pH}) \\ &= (C_b + 10^{-pH})(10^{pK_a - pH} + 1) \end{aligned} \quad (A-11)$$

Eq. (A-11) を Eq. (2) に対応する関係式に代入して整理すれば Eq. (9) が得られる。

記 号

B	: constant defined in Eq. (7), mol/(m ² ·s)
C	: concentration, mol/l or g/l
F	: Faraday constant (=96500), A·s/mol
f	: coefficient defined in Eq. (7), —
i	: current density, A/m ²
J	: ion flux in electrodialysis, mol/(m ² ·s)
K _a	: dissociation constant of acetic acid, mol/l
K _w	: ion product of water, mol ² /l ²
Q	: volumetric flow rate of liquid, l/s
S	: total area of ion exchange membrane, m ²
t	: time, min or h
u	: flow velocity, m/s
x	: concentration of cell in broth, g/l
ΔpH _{od}	: increase of pH _e against pH _i owing to transfer of OH ⁻ from cathode compartment to dialysis compartment by diffusion, —

- η : current efficiency, —
 ξ : factor defined by Eq. (5), —
 π : specific growth rate, g/(g·h)
 <Subscripts>
 A : acetic acid ion
 b : alkali added
 e : effluent of dialysis compartment
 f : fermentor
 g : glucose
 H : hydrogen ion
 HA : undissociated organic acid
 i : influent broth into dialysis compartment
 OH : hydroxyl ion
 t : total (acetic acid and acetate)
 1 : direct electrodialysis
 2 : addition of alkali followed by electrodialysis
 <Superscripts>
 * : relative value

電気透析装置およびイオン交換膜を提供していただいた旭化成工業株式会社の松井多嘉夫氏に深く感謝いたします。

文 献

- Nanba, A., Nukada, R., and Nagai, S.: *J. Ferment. Technol.*, **61**, 551–556 (1983).
- Yeh, P. L.-H., Bajpai, R. K., Iannotti, E. L.: *J. Ferment. Bioeng.*, **71**, 75–77 (1991).
- 森 明彦, 吉川博治, 照井亮造: 醸酵工学, **50**, 518–527 (1972).
- Ishizaki, A., Ohta, T.: *J. Ferment. Technol.*, **67**, 46–51 (1989).
- Hongo, M., Nomura, Y., Iwahara, M.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **52**, 314–319 (1986).
- Yao, P.-X., Toda, K.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **36**, 111–125 (1990).
- Nomura, Y., Iwahara, M., Hongo, M.: *Biotechnol. Bioeng.*, **30**, 788–793 (1987).
- Nomura, Y., Iwahara, M., Hongo, M.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **54**, 137–142 (1988).
- de Raucourt, A., Girard, D., Prigent, Y., Boyaval, P.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **30**, 521–527 (1989).
- Ishizaki, A., Nomura, Y., Iwahara, M.: *J. Biotechnol. Bioeng.*, **70**, 108–113 (1990).
- Nomura, Y., Yamamoto, K., Ishizaki, A.: *J. Ferment. Bioeng.*, **71**, 450–452 (1991).
- Zhang, S.-T., Matsuoka, H., Toda, K.: *J. Ferment. Bioeng.*, **75**, 276–282 (1993).
- Kitamoto, A., Takashima, Y.: *J. Chem. Eng. Japan*, **3**, 182–191 (1970).
- 三好浩文, 福本次夫, 片岡 健: 日本海水学会誌, **29**, 113–117 (1975).
- 田中良修: 電気化学, **45**, 630–635 (1977).
- 富田 守, 田村吉隆: 食品工業, **12**, 42–51 (1983).
- 妹尾 学, 山辺武郎: 生産研究, **13**, 433–440 (1961).
- Lee, K., Hong, J.: *J. Membrane Sci.*, **75**, 107–120 (1992).
- Weier, A. J., Glatz, B. A. and Glatz, C. E.: *Biotechnol. Prog.*, **8**, 479–485 (1992).
- 張 書廷, 小泉淳一, 松岡 浩, 戸田 清: 化学工学論文集, **20**, 191–197 (1994).
- Zhang, S.-T., Toda, K.: *J. Ferment. Bioeng.*, **77**, 288–292 (1994).