

## 102 エタノール生成速度に基づく菌体濃度推定法

(鐘淵化学 生産技術研究所) ○中谷秀樹, 福田秀樹, 森川 久

1. 目的 培養系の運転監視や制御を行うには系の状態量, 特に菌体濃度を迅速にしかも精度良く測定できることが必要である。従来法による測定では, 精度, 測定時間等に問題があった。また, 最近新しいセンサーや原理等<sup>1)2)</sup>が提案されているが, 濃度領域に制限があるなど未だ充分とは言えない。今回演者らはチュービング法<sup>3)</sup>を用いサンプル液中のエタノール濃度を連続的に測定し, その生成速度から菌体濃度を推定することを提案した。また, この原理を用い, マイコン(コモドル CBM4032)を組み込んだ菌体濃度推定装置を作製し, 低濃度から高濃度に到る菌体濃度の推定について検討したので報告する。

2. 方法 測定対象菌体には, *S. cerevisiae*, *C. utilis* を用いた。これらの培養には阻害物質除去培養法<sup>4)</sup>を適用し, 100g/l に到る高濃度のサンプルを得た。菌体懸濁液サンプルを適当(6~10倍)に希釈した後, 半合成培地 ( $H_3PO_4$  2500, KCl 2000,  $MgSO_4$  2000,  $(NH_4)_2SO_4$  500, NaCl 100,  $CaCl_2$  100,  $FeSO_4$  100,  $ZnSO_4$  100,  $MnSO_4$  20,  $CuSO_4$  5, Biotin 0.1, Vitamin B<sub>12</sub> Vitamin B<sub>6</sub> 1, Inositol 100, Calcium Pantothenate 20, Carnitine 3, Nicotinic Acid 1, Folic Acid 0.02, Yeast extract 1000, いずれも mg/l) およびグルコース溶液を加える。このサンプル液中のエタノール濃度をチュービング法により測定し, 嫌気状態におけるエタノールの生成速度とサンプルの乾燥菌体重量との相関関係を調べた。尚, FID検出器の出力はアンペアで0~2Vに変換し, A/Dコンバーターを介しマイコンに取り込ませた。また, 測定槽内の温度は32°Cに保ったが, 若干の変化があるので温度センサーを用いて測定し, 同様の方法でマイコンに取り込ませた。この両者の値を用いマイコン内で温度補償を行いエタノール濃度を算出し, 生成速度はマイコンに内蔵されたタイマーを並用し, 最小自乗法により決定した。FID検出器に代る簡便な検出器として市販の半導体ガスセンサーを用いる方法についてもあわせて検討した。

3. 結果 比エタノール生成速度は, サンプル液中の初期グルコース濃度によって異なるが, *S. cerevisiae* の場合, 初期濃度が15~50g/lの範囲でグルコース濃度に関係なくほぼ一定の値約1200mgエタノール/g dry cell/hrを保持した。初期濃度がこの範囲より低くても, 高くても, 生成速度は低下する傾向にあった。従って, 測定は初期グルコース濃度25g/lで行った。この結果, 10g/lから100g/lの高濃度に到るまで乾燥菌体重量とエタノール生成速度との間には誤差±3%以内の良好な直線関係が認められた。*C. utilis* の場合も値は異なるが同様の直線関係が得られた。従って, 本法は基質の添加にエタノールを生成する多くの菌体に対して有効であると考えられる。

## (文献)

- 1) 松永, 中原, 軽部, 鈴木: 昭和55年度日本醸酵工学会大会講演要旨集 P138
- 2) 塩谷, 伊原, 横山, 高松: 化学工学第14回秋季大会講演要旨集 第3分冊 P785(1980)
- 3) Dairaku, K., Yamame, T.: Biotechnol. Bioeng., 21, 1671(1979)
- 4) Fukuda, H., Shiotani, T., Okada, W., Morikawa, H.: J. Ferment. Technol., 56, 361(1978)