

239

高細胞密度培養による食酢の生産

(東大応微研) ○戸田清、朴龍洙(中塾中研) 川村吉也、奥村一、深谷正裕

目的

生物細胞による物質生産反応における欠点の一つとして反応速度が遅いことが指摘されている。この問題の解決を図る対策として細胞濃度を高めることが挙げられる。しかし、栄養物質の供給と消費のバランスを保つことが肝要であり、特に好気性微生物の場合は酸素の供給が律速になると所望の成績を上げることが困難である。ここでは酸化発酵として代表的な酢酸菌による食酢の製造を例にとり、ホローファイバーメンブレンバイオリアクター(HMR)とシャローフローバイオリアクター(SFR)の2種の高細胞密度培養法を適用した場合に高い生産速度を達成するための条件と生産性を支配する因子の究明を目的として以下の研究を行なった。

方法 HMRは培養液量 0.6 l のジャーファーマンター(丸菱バイオエッジ, MD260 型)とホローファイバー膜ろ過モジュール(旭化成, PMP103型)を組み合わせて連続発酵を行い、ろ液のみを分離回収することにより酢酸菌の濃厚培養を行った。高細胞密度培養液の酸素需要を充たすために、窒素吸着型酸素富化装置(テイジン, HISANSO型)を使用して供給空気の酸素分圧を高めた。シャローフローバイオリアクター(SFR)は巾 1.7 cm 長さ 94.4 cm の開水路の液面に酢酸菌の皮膜を形成させ培地を浅い液流で流通することにより高細胞密度培養を行った。液面に生育した菌膜への酸素供給は自然通気により行った。使用菌株は *Acetobacter* M23株とM7株。使用標準培地の組成($g\ l^{-1}$)はエタノール 47.4, 酢酸 10, 酵母エキス 5 および ペプトン 2 である。エタノール濃度は GC 法、酢酸濃度は中和滴定法、酸素濃度は隔膜電極法で定量し、菌体濃度は乾燥固形物として表した。

結果

(1) 酢酸濃度 $40\ g\ l^{-1}$ 以上の培養液を得ることを目標とすれば、希釈率 $4.0\ h^{-1}$ の HMRにおいて $120\ g\text{-酢酸}\ l^{-1}\ h^{-1}$ の最大の生産速度が達成され、この値はろ過モジュールを用いる菌体濃縮操作を行わない場合の 43.6 倍に達した。この場合の生産速度の上限を規定する因子は溶存酸素であった。

(2) HMRにより高菌体濃度(約 $36\ g\text{-乾燥菌体量}\ l^{-1}$)を達成するのは比較的容易であったが、生菌率を著しく低下させないようにすることが難しかった。生産物の酢酸が高濃度になるに伴い酢酸菌の失活速度が大きくなり生菌率が激減した。供給培地の酵母エキス濃度を $5\ (g\ l^{-1})$ から 20 まで増加すると酢酸による細胞の失活を保護する効果が認められた。しかし、それ以上の濃度ではかえって細胞の生活性(比増殖速度および比生産速度)を阻害するので、増殖速度に応じて適度な速度で酵母エキスの供給を行うことが重要であるという結果を得た。

(3) 酸素富化空気の使用は酢酸発酵の生産速度を高水準に維持するために必要であったが、酢酸菌の生活性に及ぼす溶存酸素濃度の影響に関しては、2~3 ppm の酸素濃度が適当であり、それ以上の 00 濃度ではかえって生活性が減少した。培養液に局所的な超高濃度の溶存酸素域が生成しているためと考えられる。

(4) SFRにおいて、液深を浅くするほど、見掛けの菌体濃度が高まり、 $H = 0.093\ cm$ の条件で $17.0\ g\text{-乾燥菌体}\ l^{-1}$ に達し、酢酸濃度 $57.6\ g\ l^{-1}$ を含む培養液が生産速度 $31.7\ g\text{-酢酸}\ l^{-1}\ h^{-1}$ で得られた。エタノールを酢酸に酸化するために必要な酸素供給速度は K_{La} で $2,250\ h^{-1}$ であることから、酸素の強制的供給を行わないにも拘わらず、攪はん強度の大きなジャーファーマンターと同一水準の酸素供給が行われていることが分った。液面生育菌膜のシワ状の表面と薄膜内の酸素消費による物理的酸素移動の促進および空気に接触して生育する菌による酸素ガスの直接摂取の効率性の3要因が関係しているものと考えられる。

Vinegar Manufacture by High Cell-Density Culture.

K.Toda, Y.S.Park; Y.Kavamura, H.Okumura, M.Fukaya

Inst.App.Microbiol., Univ.of Tokyo; Central Res.Inst., Nakano Vinegar Co.