

Title	グルタミン酸醗酵に関する研究 主として酸素供給に関する解明について
Author(s)	吉野, 大資
Citation	大阪大学, 1962, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/28442">https://hdl.handle.net/11094/28442</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉大阪大学の博士論文について〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【 9 】

氏名・(本籍)	吉野大資 よし の だい すけ
学位の種類	工学博士
学位記番号	第 311 号
学位授与の日付	昭和 37 年 3 月 26 日
学位授与の要件	工学研究科 醸酵工学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	グルタミン酸醸酵に関する研究 主として酸素供給に関する解明について (主査) (副査)
論文審査委員	教授 寺本 四郎 教授 芝崎 勲 教授 照井 堯造

論文内容の要旨

この論文は、微生物を用い、グルコースから直接グルタミン酸を醸酵的に生産せしめる所謂グルタミン酸醸酵に関し基礎的な研究を行った結果をまとめたものであり、特に本醸酵に支配的な役割を演ずる酸素に関連する諸問題について物理的及び生理的な効果の 2 つの面より追及を行った。

まず、第 1 編では天然物からグルタミン酸生産菌の分離、検索について述べ集殖培養的な新検索法を提案し、さらにグルタミン酸の分析法の吟味を行い、且つ生産能の保持方法を示した。また、分離されたグルタミン酸生産菌はその菌学的性質より *Brevibacterium* に属する新菌株であることを明らかにした。

第 2 編においては醸酵諸条件に対する吟味を行い、最適培地組成および最適培養条件を決定し、これらの結果に基づき行った中間工業装置における醸酵では対初糖 40 % のグルタミン酸収率を得、工業的な醸酵生産の可能なことを示した。

第 3 編では、好気的な醸酵生産に特に重要な意味をもつ酸素供給に関し、物理的な物質移動係数の 1 つと考えられる酸素吸収速度恒数  $kd$  のグルタミン酸醸酵におよぼす効果につき追を行い  $kd 4.3 \times 10^{-6}$  に最適条件の存在することを明らかにした。

さらに酸素供給と酸素要求のグルタミン酸醸酵における関連性を示し、且つ酸素要求速度におよぼす培地成分の影響につき検討を加えた。酸素の生理的な効果に関しては、まず既成細胞の呼吸速度におよぼす溶存酸素濃度の作用を解析し、対酸素親和性の PH に依る変動を示した。また溶存酸素濃度の発育に対する効果につき解析を行い  $10^{-4} \sim 10^{-7} M/L$  の濃度範囲では  $\mu = C [O_2] k$  なる関係の成立することを示した。さらに発育を含めたグルタミン酸生成に対する溶存酸素濃度は  $10^{-5} M/L$  において最大値を示すことを明らかにした。

論文の審査結果の要旨

本論文は緒言、本文第 1 編 2 章、第 2 編 2 章、第 3 編 3 章および総括よりなっている。

微生物を用い、グルタミン酸を醗酵的に生産せしめる所謂グルタミン酸醗酵に関し、その工業生産に対する基礎的研究を行なった結果をまとめたもので、特に本醗酵に支配的な役割を演ずる酸素に関連した諸問題については、物理的および生理的な面より考察を行なっている。

緒言においては、微生物による菌体外グルタミン酸生産に関する文献並びにこれが工業化への研究を紹介し、現実的に工業生産特に好気的な醗酵として支配的な役割を演ずる酸素供給に関し、取扱ったものの少いことを指摘し、これが工学的、生理的な面より究明することを本論文の目標としている。

第1編は、グルタミン酸生産菌の検索であって、第1章は有力菌の分離に関するものである。平板培養法により土壌、污水試料より細菌1761株中5株のグルタミン酸蓄積菌株を得、糖分に富む食品工場内土壌より集殖培養法により、661株中グルタミン酸蓄積菌12株をえた。第2章は分離菌の菌学的性質の究明であって、グルタミン酸蓄積菌株の代表的なものとして、761—8, 425—19, 425—30, 45—40の4菌株について菌学的諸性質を検討した結果、相互に類似性が認められ、いずれも BERGEX' S Manual 第7版の分類式における Genus *Brevibacterium* に属し、*Brevibacterium incertum* または *Brevibacterium imperiale* に類縁のものであるとしている。

第2編は分離したグルタミン酸生産菌425—40号株、761—8号株を用いての醗酵条件に関する研究である。

第1章は、培地組成の検討であって、炭素源としてグルコースおよび澱粉酸分解液が適し、シュクロースも使用し得る。窒素源として尿素は最適であって、これは菌体増殖のための窒素源として考えられる外、ウレアーゼによるpH調節並びにアミノ基供与体としての働きが考えられ、この第3の作用はグルタミン酸醗酵に特異的なものであって、その必要濃度は0.2%以下であることを明らかにしている。さらにグルタミン酸生産に著しい効果を有する副窒素源としてコーンステープ液、ペプトンが425—40号株に酵母エキス、NZamineが761—8号株に効果的であることを認めた。これら副窒素源の含有するビオチンおよびアミノ酸のシスチン、チロシンが促進作用を持つと考えられるも、その使用濃度は培地の通気攪拌条件により影響を受けるものとしている。金属イオン中 $Fe^{++}$ ,  $Ni^{++}$ ,  $Ca^{++}$ の微量は促進的に作用し、 $Zn^{++}$ ,  $Cu^{++}$ は阻害的に作用する。またAs化合物はL-ケトグルタル酸の蓄積量を増加し、グルタミン酸蓄積には0.002Mを最適とした。

第2章は培養条件の吟味であって前培養の培地組成および培養方式は本培養におけるグルタミン酸生産に影響が少なく前培養時間16~20時間、接種量2~3%を最適としている。pHは7.0~8.5に保持することが望ましく、その目的に対し、尿素の逐次添加法が有効としている。消泡剤としては、東芝製シリコン油を選択している。中間工業試験における生産実験で対初糖40%前後のグルタミン酸収率を得、工業的生産の可能性を指摘している。

第3編は、グルタミン酸醗酵における酸素の影響について研究したものである。第1章は酸素供給速度の影響、即ち、振盪フラスコ、ジャー醗酵槽における振盪、通気、攪拌の条件が、菌体の増殖およびグルタミン酸生産におよぼす影響を見たもので、通気攪拌の程度は酸素吸収速度恒数  $kd$  を指標として、振盪培養では  $kd\ 4.3 \times 10^{-6}$  迄は  $kd$  の大きいほど菌体の増殖が著しく、またグルタミン酸生産のためには定常発育期に入ることの菌体が活性強く、その頃までに適量(振盪培養では約8mg/ml)の菌体量が得られる

ように通気攪拌を調整すること、さらに適量の菌体が培地中に存在する場合には  $kd\ 4.3 \times 10^{-6}$  附近でグルタミン酸の生産が最も大きいとしている。第2章はグルタミン酸醗酵における菌体の酸素要求の問題を取扱ったもので、グルタミン酸生産には、菌の酸素要求を満足せしめるに必要な量より、はるかに過剰の酸素供給の必要なことを認めている。酸素要求を発育と呼吸活性の2因子に関連して示されるが、グルタミン酸生産用培地成分と、これら2因子に対する効果について究明した結果としては、グルコース、ビオチンは発育を促進し、尿素は呼吸に若干の効果を示し、有機窒素化合物は発育、呼吸共に著しく増加せしめることを認め、グルタミン酸生産菌に最も利用されやすい有機窒素化合物を選ぶことによりグルタミン酸収量を著しく増大せしめうるとしている。

第3章は溶存酸素とグルタミン酸生産菌の生理性状とを究明したものである。

グルタミン酸生産菌 532-2 号株について呼吸速度を溶存酸素濃度の函数として Michaelis-Menten の式を適用し Michaelis 恒数 ( $k_m$ )  $0.97 \times 10^{-6} \text{ M/L}$  なる値を得、その対酸素親和性は pH により変化し、酸性における呼吸速度の減少を説明している。呼吸の臨界溶存酸素準位は、ほぼ  $1.0 \sim 2.0 \times 10^{-6} \text{ M/L}$  と算出されるが実際の醗酵培地におけるごとく、菌体への溶存酸素分布が充分でない場合、臨界濃度は見かけ上変化するものとしている。溶存酸素濃度が  $10^{-4} \sim 10^{-7} \text{ M/L}$  の範囲において菌の比発育速度  $\mu$  と溶存酸素濃度  $[O_2]$  の間に  $\mu = C[O_2]k$  なる関係の存在すること、発育を伴うグルタミン酸生成にあつては、溶存酸素濃度  $10^{-5} \text{ M/L}$  において、グルタミン酸生成が最大となることを見出している。以上のように著者はグルタミン酸の醗酵生産の工業化に対する工学上重要な基礎的問題の解明に寄与したもので著者の研究は学術上にも工業上にも貢献するところ多大である。

よって、本論文は博士論文として価値あるものと認める。