The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Optimization of Yellow Pigments Production Process by Monascus sp.
Author(s)	Krairak, Somchai
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42399
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【22】

氏　　名	Krairak, Somchai（くらいらっく，そむちゃい）
博士の専攻分野の名称	博　士（工　学）
学　位　記　番　号	第　15820　号
学位授与年月日	平成13年1月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科応用生物工学専攻
学　位　論　文　名	Optimization of Yellow Pigments Production Process by *Monascus* sp. （*Monascus* sp. による黄色色素生産プロセスの最適化）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　塩谷　捨明 （副査） 教　授　卜部　格　　教　授　菅　健一　　教　授　福井　希一 教　授　吉田　敏臣　　教　授　小林　昭雄　　教　授　室岡　義勝 教　授　関　達治　　教　授　原島　俊

論　文　内　容　の　要　旨

本論文は、紅麹カビ *Monascus* sp. の変異株を用いた黄色色素の最適生産に関するものである。従来、即時計測することの困難であった糸状またはペレット状の菌体濃度を誘電率計測法を用いて観測することにより、菌体の形状に依存することなく、菌体濃度を測定した。さらに、この情報を流加培養系における基質流加の決定のために用いることにより、精密な菌体増殖速度制御を行い、増殖と黄色色素生産の最大生産を達成している。論文は序章、第2章、第3章、第4章及び総括、結論から構成されている。

序章では、*Monascus* が分泌する色素について従来の研究を要約し、本論文で用いた黄色色素生産変異株の研究背景について述べている。また、本論文の、目的、意義、構成を明らかにしている。

2章では、黄色色素生産の基本的な培養条件の検討について述べている。従来、キャッサバデンプン、大豆粉を栄養源とする天然培地により *Monascus* 培養は行われてきたが、均一な品質のイーストエキス、モルトエキス、ポリペプトン、グルコースに栄養源を変換することにより、より安定して高い生産量を得ることのできる培地が設計されている。また、5L容ジャーファーメンターの基本的培養条件について検討している。

3章では、誘電率計測技術を用いた菌体濃度の測定法について示している。誘電率を計測することにより、*Monascus* が菌糸状、ペレット状などの形態変化を伴ったり、色素生産するような状況においても、即時的に菌体濃度を計測する方法を確立している。誘電率計測の周波数が計測感度、計測ノイズの大きさに影響を及ぼすため、感度が大きく、かつ、ノイズの比較的小さな周波数を決定している。これにより、菌体が増殖を続けている限りにおいては、良好な精度で菌体濃度の計測が行えることが示されている。

4章では、*Monascus* 流加培養系における黄色色素生産について示している。*Monascus* は炭素源であるグルコースが、非常に低濃度になると黄色色素生産が誘導されるため、流加培養系における最適生産法が開発されている。誘電率計測から得られた菌体濃度情報に基づき、流加速度を変更することにより、微生物の増殖、黄色色素生産活性を制御できることが示されている。増殖と生産のバランスを考慮して、回分培養の初期基質濃度、培地流加速度が設計され、最適生産が実現化されることが示されている。

最終章において本論文の内容を要約し、総括的結論が述べられている。

論文審査の結果の要旨

赤色色素を生産する *Monascus* は紅麹菌として日本でも古くから知られ利用されてきた微生物である。本研究で用いられた *Monascus* sp. EB20M10.2 は赤色色素の代わりに高濃度の黄色色素を生産する変異株である。従来より、カビを用いた有用物質生産においては、形態が変化することにより菌体濃度の即時的な計測が困難であること、目的物質が二次代謝産物である場合、その生産パターンをモデル化することが困難であること、従って、最適生産の方策が立てにくいことなどの問題点があった。本研究では、誘電率計測を利用することにより、菌体濃度を計測し、さらに、この情報を用いて流加培養を行うことにより黄色色素生産を最適化する方法論を開発したものである。得られた主な成果は以下の通りである。

(1) 誘電率を計測することにより、培養液中の菌体濃度を計測する方法を開発している。培養槽に直接、誘電率計測プローブを取り付け、連続的に誘電率を計測する方法が発酵プロセスで用いられるようになってきているが、本論文では、通気、撹拌、培地栄養成分、pH などの培養環境条件がどのように計測に影響を与えるかを詳細に検討している。pH、培地栄養成分の変化、色素の生産は、計測に影響を与えないが、通気、撹拌が最も計測精度に大きく影響することを明らかにし、通気、撹拌の影響を受けない測定法を開発している。

(2) 誘電率計測において、測定周波数を変えるとノイズとシグナルの感度が変化するが、ノイズとシグナルの強度の比（誘電率の平均値を標準偏差で割った値）が最も大きくなる、すなわち、感度が大きく、かつ、ノイズが小さい最適測定周波数の決定を行い、この条件で、即時計測を行うことにより、菌糸状、ペレット状のカビの形態に関わらず、生細胞の乾燥重量濃度を計測できることを明らかにしている。

(3) 回分培養系では、黄色色素は、炭素源であるグルコースが枯渇する時点で急速に生産が開始されることから、低濃度のグルコース濃度に保つことのできる流加培養系における黄色生産の解析を行っている。流加培養系における培地流加速度の決定には菌体濃度の情報が必要であるため、誘電率計測により得られた菌体濃度を用いて流加速度を決定することにより、精密な増殖の制御が行えることが確認されている。この方法を用いて、比増殖速度を種々の値に制御し、比増殖測度と黄色色素比生産速度の関係について明らかにしている。

(4)得られた比増殖測度、比生産速度の関係より、用いる総グルコース量を一定とした場合の最大の色素生産を得る方策を検討している。培養全体をグルコース濃度を高く保った回分培養による増殖期、グルコース濃度を低く保ち増殖を制限させつつ色素生産を活性化させる生産期に分割し、回分培養期における初期グルコース濃度、流加培養期における設定比増殖測度を最適化することにより、回分培養法に比較して、同量のグルコースから約 2 倍の黄色色素が生産されることが明らかになっている。

以上のように、従来は複雑な形態変化や培地中に存在する色素のために即時的な菌体濃度計測が困難であったカビの培養系において誘電計測法を利用した菌体濃度のオンライン計測、また、この情報をもとにした増殖制限流加培養法を構築し、低グルコース濃度における増殖と色素生産の関係を明らかにする方法論を確立しており、また解析結果を用いて最適方策を構築し、実現している。このように、本研究は、微生物培養工学の発展に寄与するところが大きく、よって本論文は、博士論文として価値あるものと認める。