

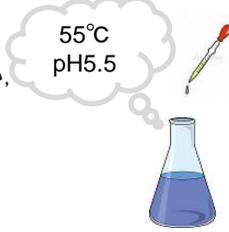
# Bacillus coagulansの増殖至適条件の探索

環境計画研究室 砂川 裕二

## 背景・目的

現在、糖質含有量の高い農業廃棄物を原料に発酵を行い、L-乳酸などの生産が検討されている。

中でも高温L-乳酸発酵は植種を伴い、**温度55°C、pH5.5**に整えることで *Bacillus coagulans*の自然な優先化が起こり、L-乳酸を生成することができ比較的容易な培養法として提案されている



しかし、この発酵条件は雑菌を寄せ付けないためであり *Bacillus coagulans*本来の増殖至適条件ではない。

また、従来の高温L-乳酸発酵の際、糖化時に必ず滅菌を行う。この滅菌工程を次工程でも引き継ぐことができれば、55°C、pH5.5の条件にこだわることなく、本来の増殖至適条件で発酵が行える。

## 目的

*Bacillus coagulans*本来の増殖至適条件の探索

## 実験方法

### ケモスタット系による連続培養

$$\mu = D \quad (1)$$

$$X = Y(S_f - S) \quad (2)$$

$$P = \left(\frac{1}{Y} - 1\right)X \quad (3)$$

$\mu$ : 比増殖速度 X: 菌体濃度 D: 希釈率(=基質流入量/反応器体積)

S: グルコース濃度 P: 生成物量(乳酸) Y: 収率

### 最大比増殖速度の導出

Monod式では比増殖速度は  $\mu = \mu_{max} \{S / (K_s + S)\}$  ( $K_s$ は基質親和度)と表わされる。リアクター内のグルコース濃度を高く設定し、乳酸生成量を極力0に近づける操作を行うことで  $\mu = \mu_{max}$ となる

最大比増殖速度  $\mu$  をもって評価する

ケモスタット系により式1~3を得る

実験範囲は45°C, 50°C, 55°C pH5.5, 6.5, 7.5の組み合わせを変えた9通り。なお中心条件はくり返し3回実験を行った。

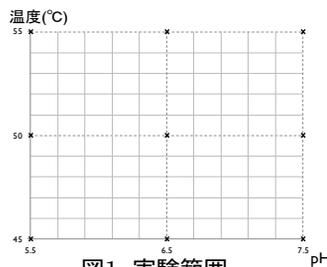


図1 実験範囲



図2 ケモスタット実験図

## 結果とまとめ

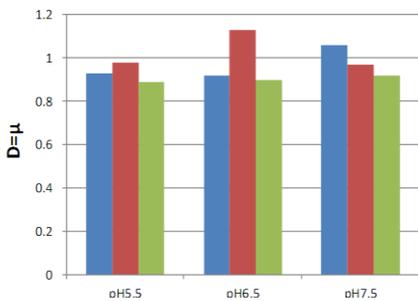


図3 実験条件別の最大比増殖速度の値

本実験の設定範囲では**50°C、pH 6.5**で高い最大比増殖速度の値となった(平均1.13)。次いで、45°C、pH7.5が高い  $\mu$  の値が得られた(1.06)。

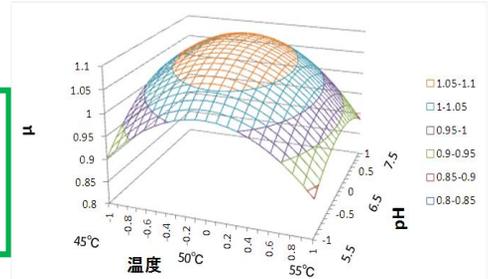


図4 応答曲面図

$$Y = 1.0916 - 0.0333X_1 + 0.025X_2 - 0.1189X_1^2 - 0.0539X_2^2 - 0.025X_1X_2 \quad (4)$$

$$X_1 = \text{温度} \quad X_2 = \text{pH}$$

また、応答曲面法を用いて、増殖至適条件の探索を行った結果、式4を得た。重回帰の検定を行った結果、p値は0.2034となった。仮に、この得られた式4から傾向が見られるとすると、至適条件は**温度49度、pH6.8**付近に高い比増殖速度が期待される。

次に係数の検定を行い、変数の選択をし、最良な変数を選択して重回帰式を求めた。結果、式(5)が得られた。P値は0.0173で予測式として使えるものとなった。この予測式では、実験条件の範囲内では**pHの影響はなく、温度を50°C**にすることが重要であるとわかった。

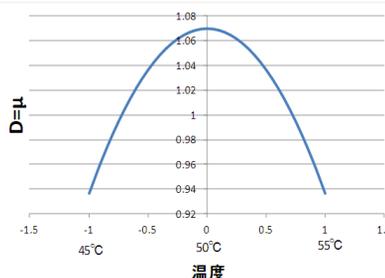


図5 温度による増殖速度の予測式

$$Y = -0.133X_1^2 + 1.07 \quad (5)$$

$$X_1 = \text{温度}$$

## まとめ

実験結果より、**温度50度、pH6.5**で一番高い  $\mu$  の値を得た。

応答曲面法では**49°C、pH6.8**が期待されるという計算結果となった。

重回帰式の係数を検定すると実験範囲では**pHの影響は見られず、温度50°C**にすることが重要であるとわかった。

*Bacillus coagulans*の  
増殖至適条件の探索

環境計画研究室  
砂川裕二