

## バイオテクノロジーへの膜技術の応用

Applications of Membrane Technology for Biotechnology

中尾 真一\*・斉藤 史代\*・木村 尚史\*

Shin-ichi NAKAO, Fumiyo SAITOH and Shoji KIMURA

バイオテクノロジーは、遺伝子工学、酵素工学、分離工学などの種々の技術から構成されているが、このうち酵素工学や分離工学には膜技術を応用できる部分が多い。ここではバイオテクノロジーの主要技術と、最近著しく開発が進んでいる各種の膜技術について概説したのち、バイオテクノロジーへの膜技術の応用の中心となっているメンブレンバイオリアクターについて、その概念や酵素反応、発酵への応用の事例などを解説する。

## 1. はじめに

ここ数年、特に日本では、“バイオブーム”とでも呼ぶべき過熱現象に国中がかき回されているかの感が強いが、“バイオテクノロジー”という言葉そのものは、本来、“生命現象を科学的に理解し知識を蓄積することによって生まれてきた、人類社会に貢献することのできる実用技術”の総称である。確かに、DNAの組換えなどで脚光を浴びている遺伝子工学は、目下のところバイオテクノロジーの花形であろうが、それと同時に、味噌や醤油、清酒などの製造を通じて培われてきた日本の伝統的な発酵技術も、バイオテクノロジーの最も重要な技術の一つである。すなわち、こういった幾つもの主要技術の組合せによって、初めて産業技術として成立する技術体系が、バイオテクノロジーなのである。

一方、最近10年間ほどの膜技術の進歩にも目を見張るものがある。海水淡水化技術として開発された逆浸透法は、現在ではエタノールなどの低分子量有機物をも濃縮できるようになっている。また、種々のポリマーが合成され製膜技術も進歩するにともない、耐熱性や耐薬品性、耐pH性にすぐれた各種の限外濾過膜が開発され実用に供されてきている。更に、気-液系の分離技術であるパーバレーション法や、酸素富化に代表される気-気系のガス分離法なども実用段階に入りつつある。現在でもニューテクノロジーと呼ばれている膜技術ではあるが、このように広範囲な産業分野においてすでに実用技術として定着しており、今後ますます応用が広がっていくものと期待されている。

今日見られるような近代工業の著しい発展は、有用な

化合物を有機合成反応で大量生産することにより実現された。しかしながら、このような産業技術のありかたは、同時にエネルギー問題や深刻な環境汚染なども引き起こした。そこで、近年、より省エネルギー的で環境との調和にも勝る生化学反応を、有機合成反応のかわりとして工業生産に利用しようとする機運が高まってきており、その手段としてのバイオテクノロジーが一躍注目を集めるようになってきた。生化学反応を工業生産に利用する場合に重要となる技術は、酵素や微生物あるいは生成物などの分離、精製技術である。省エネルギー分離技術として発展してきた膜技術が時を同じくして実用段階に入ったことにより、バイオテクノロジーへの膜技術の応用が急速に進められるようになったのは、いわば当然の帰結であろう。

ここでは、バイオテクノロジーの主要技術と膜技術の現状とを概説し、バイオテクノロジーへの膜技術の応用、特に最新の技術であるメンブレンバイオリアクターについて研究例を紹介しつつ解説する。

## 2. バイオテクノロジーの主要技術

バイオテクノロジーの中心的役割を担っているものは、酵素や微生物、更には動物や植物細胞などの生物機能である。従来の有機合成反応にかわって、この生物機能の中心をなす生化学反応を工業生産に利用する場合の長所、短所は、表1<sup>1)</sup>に示す両反応の特質から理解することができよう。常温、常圧といった緩和な条件の下、少ない消費エネルギーで特異性の高い反応が行えること、環境との調和を損う恐れが少ないことなどは、生化学反応の大きな利点である。また、セルロースやデンプンなどの再生可能な資源を原料として用いる点も利点として

\* 東京大学生産技術研究所 第4部

あげることができよう。しかしながらその反面、生物にとって好ましい環境下で反応が最も効率よく進行することから、反応基質や生成物の濃度をむやみに高くすることはできない。また、酵素や微生物は物理的、化学的に不安定なため、生成物の分離、精製手法も限られてくる。生化学反応を工業的に利用するためには、これらの短所を何らかの方法で補う必要があり、バイオテクノロジーを構成する主要技術はこれを目的に発展してきた。

バイオテクノロジーの主要技術と相互の関連については、福井がわかりよく図解している。<sup>2)</sup> 図1は、それを若干手直ししたものである。図より、バイオテクノロジーは幾つもの主要技術から構成されていることがよく理解できるが、それらは大きく3つに分けることができる。

2.1 遺伝子工学と細胞融合

第一のグループは、現在多くの注目を集めている遺伝子工学や細胞工学である。例えば酵母によるアルコール発酵の場合、生成物であるアルコールの濃度が高くなると酵母にとって好ましくない環境となるため、アルコールを生成しなくなってしまう。このような現象は生成物阻害と呼ばれ、生化学反応を工業的に利用してアルコールを大量生産する場合の大きな障害となる。そこ

で、より高濃度の環境下でも生成物阻害が起こらないように、酵母そのものの性質を変えてしまうことが試みられてきた。優良野性株の選別から始まったこの試みは、化学物質や放射線を使う人為的な変異技術へと進み、現在では遺伝子組換えや細胞融合などにより、偶然に頼ることなく人為的に微生物の性質を変えることができる遺伝子工学、細胞工学へと発展してきている。これらの詳細については、本稿の目的とするところではないので、ここではふれないことにする。

2.2 培養工学と酵素工学

第2のグループは、微生物や動物細胞を培養する培養工学と、酵素あるいは微生物菌体、動物細胞がもつ機能を効率よく利用するための酵素工学である。培養工学は、細胞融合によって作り出された新細胞を大量に培養する際に重要となる。最近話題を集めているモノクローナル抗体なども、大量培養技術なくしては産業規模での生産は不可能であろう。

2.2.1 固定化生体触媒

従来の酵素法、発酵法は、通常、回分式で反応がおこなわれ、反応終了後残っている酵素や微生物は分離、除去されるが、酵素や微生物の回収、再使用は一般に困難であった。そこで、1960年以降、連続反応、酵素再利用ができるよう、酵素を活性をもったまま一定空間内に閉じ込めておく固定化に関する研究が盛んになった。その後1970年代に入って、微生物菌体そのものを固定化する固定化微生物の研究が盛んになり、更に、固定化された状態で増殖する固定化増殖微生物へと発展してきた。最近では動物細胞の固定化も試みられるようになってきており、これらは固定化生体触媒と総称されて、酵素工学の重要な部分を占めている。

固定化方法としては、これまで非常に多くの方法が考案されているが、それらを整理、分類すると、担体上に物理的に吸着あるいは化学的に結合する担体結合法、担体を用いず酵素あるいは微生物同士をグルタルアルデヒドなどで架橋する架橋法、そして、高分子ゲルの格子中に包み込むか半透膜性の皮膜によって被覆する包括法の

表1 有機合成反応と生化学反応の特質<sup>1)</sup>

特 質		有機合成反応	生化学反応
反 応	条 件	高温、高压	常温、常圧
	消費エネルギー	大	小
	溶 媒	水、有機溶媒	水
	触媒の毒性 特異性 制 御	有 低 易	無 高 易~中
生 成 物	濃 度	高	中~低
	副 生 物 分 離 精 製	少~中 易~中	少 中~難
装 置	自 動 化	易	易~中
	大規模化利益 はん用性	大 中	中 中
環境との調和		難	易

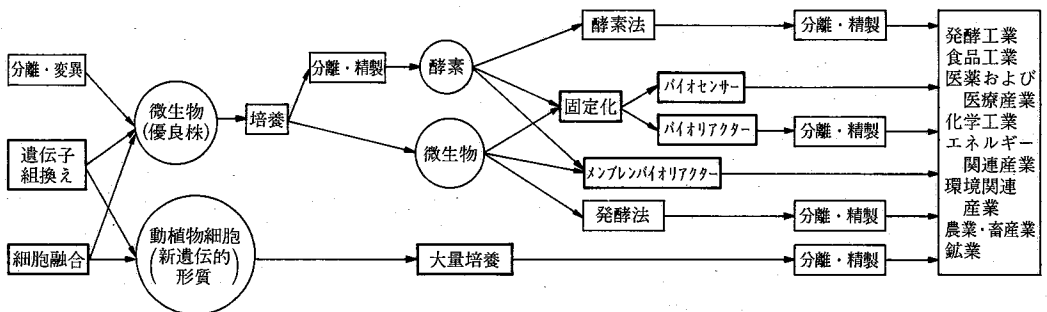


図1 バイオテクノロジーの主要技術と相互の関連(□は新技術)

表2 合成用バイオリアクターの工業化例<sup>9)</sup>

応 用	固 定 化 生 体 触 媒	工業化開始の時期
DL-アミノ酸の光学分割	固定化アミノアシラーゼ	1969年
L-アスパラギン酸の製造	固定化 <i>Escherichia coli</i> (アスパルターゼ)	1973
6-アミノペニシリン酸の製造	固定化ペニシリンアミダーゼ	1973
異性化糖液の製造	固定化グルコースイソメラーゼ	1973
L-リンゴ酸の製造	固定化 <i>Brevibacterium ammoniagenes</i> (フマラーゼ)	1974
低乳糖乳の製造	固定化ラクターゼ	1977
L-アラニンの製造	固定化 <i>Escherichia coli</i> (アスパルターゼ) と固定化 <i>Pseudomonas dacumhae</i> (L-アスパラギン酸 $\beta$ -デカルボキシラーゼ)	1982

3つに大別される。酵素の固定化には担体結合法が最もよく用いられており、微生物菌体の固定化には包括法が最もよく用いられている。なお、固定化法の詳細については成書<sup>9)</sup>を参照していただきたい。

### 2.2.2 バイオセンサーとバイオリアクター

固定化生体触媒をいかに効率よく使うかも酵素工学の重要な課題であり、2つの使用法に分類される。一つは分析や計測用センサーの素子としての使い方、この種のセンサーはバイオセンサーと呼ばれている。もう一つは触媒としての使い方、反応器はバイオリアクターと呼ばれている。

バイオセンサーには包括法で膜状に固定された酵素あるいは微生物が用いられる。この膜で化学物質を識別し、更に電気的なシグナルに変換して計測するのがバイオセンサーの原理である。非常に多くの種類のバイオセンサーがすでに開発されているが、そのうち酵素センサーでは、グルコース、L-アミノ酸、尿素、乳酸、尿酸などを計測するセンサーが実用化され、医療計測や食品分析に利用されている。また微生物センサーでは、エタノール、酢酸、グルタミン酸、アンモニア、亜硝酸、BODなどを計測するセンサーが実用化され、発酵工業プロセスや環境などの計測分野で用いられている。なお、バイオセンサーについては、鈴木、軽部が多くの総説<sup>9,10)</sup>を発表しているので、詳細はそれらを参照していただきたい。

固定化生体触媒をバイオリアクターの素子として有用物質を生産する場合は、その反応に最も適した反応器を選定することが重要である。これまでに多くの形態の反応器が設計され、それぞれの特徴が明らかにされているが、<sup>9)</sup>形態上からは、槽型、管型、膜型の3つに大別される。槽型反応器は主として回分および半回分反応に用いられ、管型反応器と膜型反応器とは連続反応に適している。なお、ここでいう膜型反応器とは生体触媒を膜状に固定したものを用いる反応器のことで、図1に示したメンブレンバイオリアクターとは異なるものである。代表的な反応器としては、攪拌槽型反応器、固定層型反応器、流動層型反応器などがあげられる。このうち、固定層型反応器は最も広く用いられているバイオリアクターである。流動層型反応器は物質移動が良好なため、酸素を要

求する反応、あるいはCO<sub>2</sub>のような気体が発生する反応に適しており、固定化増殖微生物を用いるバイオリアクターとしての利用が広く検討されている。

合成用バイオリアクターとしてこれまでに工業化されているものは、表2に示した7例である。<sup>9)</sup>固定化アミノアシラーゼを用いたDL-アミノ酸の光学分割は、固定化酵素バイオリアクターの世界最初の工業化例であり、固定化 *Escherichia coli* を用いたL-アスパラギン酸の製造は、固定化微生物を工業的に用いた最初の例で、いずれも我国で開発された技術である。

### 2.3 分離工学

バイオテクノロジーを構成する3番目の技術グループは、反応液から酵素や微生物を分離したり、あるいは生成物を取り出し更に精製、濃縮するための分離工学である。従来、酵素や微生物の分離にはフィルタープレス法や遠心分離法が用いられてきたが、固定化生体触媒が普及するにつれ、反応最終段階での分離の必要性は少なくなってきた。しかしながら、初期の培養段階では、分離、精製は依然として重要であり膜分離法が多く用いられている。特に限外濾過膜による酵素の濃縮については、以前から多くの研究結果が報告されている。<sup>9,10)</sup>生化学反応を工業的に利用する場合の短所である生成物の濃度が低いという点を解決するためには、何らかの濃縮技術が不可欠である。最近の膜技術の急速な発展の結果、膜分離、濃縮の適用範囲は非常に大きくなってきており、しかも、膜法は熱を使わないことから省エネルギー濃縮技術でもある。これらの点から、反応液中の基質と生成物の分離、更に生成物の濃縮といったプロセスへの膜技術の応用は大きな期待をかけられている。

### 2.4 メンブレンバイオリアクター

固定化生体触媒を用いる有用物生産プロセスには、図1に示したように、固定化、バイオリアクター、分離・精製の3つの段階が必要である。もし、これら3つの機能を合せ持ったリアクターがあれば、生産プロセスは非常に簡単で効率もよくなり、生産性は向上し、ひいては省エネルギーにもなるであろう。このようなリアクターは実現できないであろうか。

固定化という概念は、基本的には生体触媒を一定空間

表3 圧力差による分離法<sup>11)</sup>

名 称	分離媒体, 膜	分離粒径, 分子量	操作圧力 (単位は 10 <sup>5</sup> Pa)
濾過 (filtration)	濾紙, 濾布, 濾過助剤	~1 μm	減圧~2
精密濾過 (microfiltration)	各種の精密濾過膜 (メンブレンフィルター)	0.025 μm~10 μm	減圧~2
限外濾過 (ultrafiltration)	限外濾過膜 (セルロース系, 各種の合成高分子, 高分子電解質等)	分子量 1,000~300,000 (コロイド, 高分子溶液)	減圧~10
逆浸透法 (reverse osmosis) または超濾過 (hyperfiltration)	逆浸透膜 (非対称性膜, 酢酸セルロース, 芳香族ポリアミド等)	無機塩類~ショ糖 (分子量 350)	10~100 (操作圧力は原液 の浸透圧による)

内に閉じ込めて連続反応を可能にするというものである。今、生体触媒を通さず反応液だけを通す何らかのバリエーションが得られれば、これも一種の固定化と言えよう。もしこのバリエーションが反応液中の生成物のみを通すものであれば、固定化と同時に生成物の分離も可能となろう。更に、生成物を分離する際に濃縮もできるバリエーションならば、有用物生産プロセスは、このバリエーションを持つ一つのリアクターだけで代替されてしまうのである。この夢のバリエーションが高機能性膜であり、3つの機能を合せもったリアクターがメンブレンバイオリアクターなのである。残念ながら、この夢を完全に実現する膜はまだ実在してはいないが、すでに一步手前まではきており、メンブレンバイオリアクターに関する研究も活発になってきている。

### 3. 膜技術の現状

現在膜技術と総称されている技術は多種多様であるが、膜によって隔てられる膜両側の相状態により、液-液系、気-液系、気-気系の3つに分けられる。ここでは、各膜技術の概説のみにとどめるので、バイオテクノロジー以外の分野での具体的な応用については、成書<sup>11),12)</sup>を参照していただきたい。

#### 3.1 液-液系の膜技術

液-液系の膜技術は、膜両側の圧力差による分離法(表3)、濃度差による分離法である透析法、電位差による電気透析法の3つに細分される。これらのうち、バイオテクノロジーへの応用が最も期待されるのは、表3に示した圧力差による分離法である。

膜技術が今日のように盛んになったきっかけは、1960年の非対称セルロース膜の発明による、海水淡水化技術としての逆浸透法の実用化であろう。この機能性膜の出現が刺激となり、その後次々と各種の優れた高分子膜が開発され、液-液系のみならず気-気系、気-液系などの膜技術の隆盛へと到ったのである。しかしながら、単なるフィルムに小さな孔があいているだけの精密濾過膜

と異なり、高度の機能性を必要とする限外濾過膜や逆浸透膜となりうる高分子材料には限りがあった。更に実用化のためには、膜には長時間にわたる機械的安定性や、耐薬品性、耐pH性も必要である。このため、現在までに実用化されている膜材料はそれほど多くはない。逆浸透膜としては、酢酸セルロース、芳香族ポリアミドの2種が広く実用化されているのみである。最近になって、無機塩類のみならず低分子量のアルコールや有機酸などの各種有機物も分離できる複合膜<sup>13)</sup>が開発されてきたが、これによりバイオテクノロジーにおける分離精製プロセスへの逆浸透法の応用は急速に広がるものと期待される。

限外濾過膜はセルロース系、高分子電解質などのものから始まったが、現在広く実用化されているのは、ポリスルホン、ポリアクリロニトリル、ポリオレフィンの3種である。食品工業分野での応用が盛んであることから、プロセスの高温洗浄殺菌が可能な耐熱性限外濾過膜の開発が進められているが、最近では、130°C熱湯殺菌に耐えられるポリエーテルスルホンの限外濾過膜が開発されている。この種の膜は、同様に高温滅菌操作が必要なバイオテクノロジーでも利用できよう。

限外濾過膜は、篩効果により溶質分子の大きさの差を利用して分離するので、同じような大きさのものは分離できなかった。しかしながら、最近開発された荷電性限外濾過膜では、膜の荷電効果により、同じ大きさの溶質でも荷電の有無によって分離が可能となった。すでに、荷電状態の差を利用した各種アミノ酸の分離が報告されており、<sup>13)</sup> 今後、バイオテクノロジーへの応用が期待される。また、非水溶液の処理を目的としたポリイミド系の限外濾過膜も実用化されており、非水系の生化学反応への利用が考えられる。

精密濾過法は、分離対象の大きさから濾過法と限外濾過法の間位置する分離法であるが、その特徴はクロスフロー濾過と呼ばれる液の流し方にある。従来の濾過法では処理される液は全量膜を透過するため、処理液中

の溶質粒子は全て膜面上に蓄積し、これが大きな透過抵抗となって連続して大量の液を処理することはできなかった。一方、原液を膜面と平行に膜透過液とは垂直に流す(クロスフロー)と、蓄積粒子層は原液流速で決まる一定厚さ以上にはならず、透過抵抗がそれ以上増加しないため大量の連続処理が可能となる。このクロスフロー方式を用いることで精密濾過法は目下急速に普及しつつあり、バイオテクノロジーにおいても、培養微生物の分離や大量培養された融合新細胞の分離に広く利用されるものと期待されている。

ほとんど全ての多孔性膜が精密濾過膜として使えるが、耐熱性、耐薬品性などの点から、多孔性ポリテトラフルオロエチレン膜などは興味深い膜である。同様の理由から、最近開発が進んでいるセラミックスや多孔性ガラス、多孔性金属などの無機材料も精密濾過膜としての利用が期待されるところである。

膜形態としては、平膜、管状膜、中空糸膜が実用化されている。平膜は、そのまま何枚も重ねて使う方式と、のり巻状に回いて使う方式(スパイラル方式)との2通りで使用される。逆浸透法の中空糸膜は100~200 $\mu$ と非常に細いが、限外濾過用、精密濾過用には1mm前後の太いものが使われている。実用上は単位体積当たりだけの膜面積を組み込めるかは重要な要因であるが、大ざっぱには、平膜では管状膜の10倍、中空糸膜ではその平膜の更に10倍と言われており、中空糸膜が広く用いられるようになってきている。

### 3.2 気-液系の膜技術

気-液系の膜分離技術としてよく知られているものはパーペーパーレーション法である。これは、膜の片側に揮発性の混合液(例えばエタノールと水)をおき、反対側を真空にひいて膜を透過させ蒸気として取り出す方法である。このような混合物では気液平衡関係が成り立つが、膜材料によって透過性がいろいろ異なるため、前述の例では、エタノールを気液平衡で決まる濃度以上に蒸気として取り出すこともできれば、逆にほとんど水だけを取り出すこともできる。<sup>14),15)</sup> また、共沸点を有する混合物に対し、膜によってはこの共沸点を壊すことができるため、従来の抽出蒸留法などは必要なくなり省エネルギー分離が可能となる。

パーペーパーレーション法は、アルコール発酵における生成アルコールの蒸留法にかわる濃縮法として注目されているが、蒸留法も省エネルギー化が進んでおり、エネルギー的に勝る性能が得られるパーペーパーレーション膜はいまだ得られていない。しかしながら、各種の膜の開発が急速に進められているので、近い将来、実用化が可能となり、バイオテクノロジーにおける分離濃縮技術として応用されることが期待されている。

最近注目されているパーペーパーレーション法の一つ

に、膜蒸留法あるいはサーモペーパーレーション法と呼ばれているものがある。疎水性多孔質膜は水は通さないが蒸気は通すので、例えば海水をこの膜で隔てて加熱すると反対側には水蒸気だけが透過してくる。これを集めて冷却すれば淡水が得られるわけである。原理的には蒸発法と同じであるが、膜を用いることで装置をコンパクトにすることができ、また蒸発法で問題となる飛沫同伴が起こらないので、生成水の水質は非常によくなるようである。

### 3.3 気-気系の膜技術

気-気系の膜技術としては、ガス分離膜がある。従来気体混合物の分離には、液化蒸留法、吸着法、吸収法などが工業的に用いられてきたが、もし一種のガスだけを通しもう一方は通さないような膜があれば、ガス分離は極めて簡単になってしまう。現実には、このような優れた膜はいまだ実在しないが、幾つかの気体に対してはすでに膜分離法が実用化されている。

ガス拡散法によるウラン同位体の濃縮や、パラジウム膜による水素の精製などは特殊な例であろうが、1979年にモンサント社が販売を開始したプリズムセパレーターは、膜によるガス分離法を完全に現実のものとした。これは、種々の気体混合物から主として水素を回収するために用いられている。また、空気中の酸素濃度を25~35%程度に上げる酸素富化膜も実用化されている。

バイオテクノロジーでは、バイオマスの有効利用の観点から、今後メタン発酵が重要になってくるものと予想されるが、ここでは生成メタンガスの分離、濃縮に膜分離法の応用が期待される。また、酸素富化空気を用いる活性汚泥法に見られるように、高酸素濃度培養への酸素富化膜の応用なども興味の的とされるところである。

## 4. メンブレンバイオリアクターの最近の研究

### 4.1 酵素反応へのメンブレンバイオリアクターの応用

酵素反応用のメンブレンバイオリアクター(以下MBRと略す)については、古くは福島の総説<sup>16)</sup>でもふれられており、最近では前田<sup>17)</sup>古崎<sup>18)</sup>の総説がある。ここでは、特に最近の文献を中心にMBRがどのようなものかを解説する。

中空糸膜は多数の膜を束にして耐圧容器内に収めて使用するが、初期のMBRは、この膜と容器との間の空間に酵素液を閉じ込め中空糸膜の内側に基質溶液を流すといった、極めて簡単なものであった。基質が膜を透過し、外側に出てそこで酵素と反応し、生成物は再び膜を透過して内側へ戻ることで、酵素が流出することなく連続反応ができるわけである。この形式では、基質も生成物も膜の外と内との濃度差による拡散で移動するため、膜透過速度が小さく効率が悪かった。

現在広く研究の対象となっているMBRは、図2に示

すような濾過型のものである。酵素を通さない限外濾過膜を用い反応液を加圧すると、生成物は酵素に比べ十分小さく水と一緒に膜を透過するので、酵素の流出なしに連続反応がおこなえるわけである。図2の装置は実験室的な回分反応によく用いられるが、連続反応には図3に示すような反応液を循環する方式が用いられ、膜面積を大きくとるため中空糸膜が用いられる。

濾過型 MBR では、基質が小さな場合にはこれも生成物と一緒に膜を透過してしまい、固定化酵素を用いるバイオリアクターとほぼ同様な結果になる。したがって特に膜を使う利点はなくなってしまうわけである。MBR が最も有効となるのは、酵素と基質の両方が膜を透過せず生成物のみが透過する系に用いた場合である。

1973年の第一次石油ショック以降、バイオマスからの発酵法によるエタノール生産の研究が多くの国々で進められているが、このプロセスはセルロースや澱粉などから発酵原料のグルコースを作る糖化プロセスと、それに続く発酵、生成エタノールの濃縮プロセスから成っている。この糖化プロセスでは、基質は膜を透過しないセルロースや澱粉であることから MBR に適したプロセスであり、多くの研究例が報告されている。なお、発酵プロセスへの MBR の応用も、後述するように広く進められ

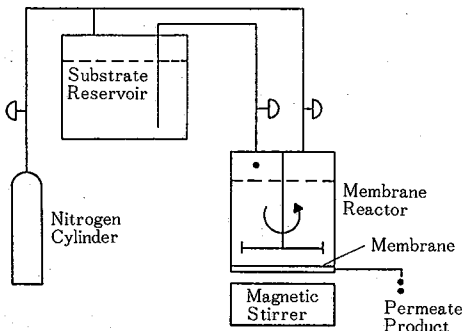


図2 濾過型回分式メンブレンバイオリアクター (平膜を用いるもの)

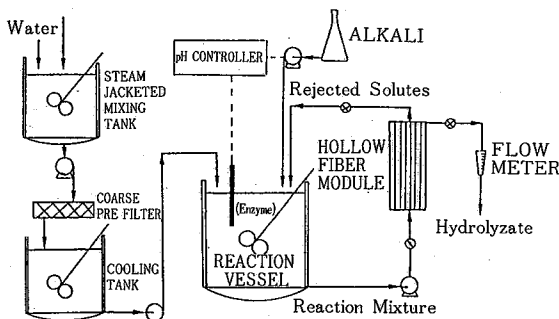


図3 濾過型連続式メンブレンバイオリアクター (中空糸膜を用いるもの)

ている。

セルロースの糖化は2段の酵素反応で、二糖であるセロピオースを経てグルコースに加水分解されるが、セロピオースは第一段の反応において強い生成物阻害を示す。このため、セロピオースを連続的に反応系から取り出すことは、糖化反応では非常に重要となり、すでに1970年には、Ghoseら<sup>19)</sup>がセルロース糖化への MBR の応用を試みている。

スウェーデンのルント大学では、セルロースからの発酵法によるアルコール生産の研究プロジェクトが進行中であるが、モデル系としてセルロースパウダーを用いた MBR による糖化実験<sup>20)</sup>を経て、実際に前処理したやなぎの木の糖化実験をおこなった。<sup>21)</sup> 図2と同様の MBR を用い、反応生成物を連続的に取り出すことで生成物阻害を防止したところ、4.7g/g 酵素という回分反応の場合の還元糖への転換率は、25.7g/g 酵素にまで向上された。

ルント大学の MBR では、セロピオースが膜を透過するため第一段反応の生成物阻害は低くおさえられるが、最終的にグルコースを得るためには、更にセロピオースを加水分解する第2段目の反応が必要となる。Hongら<sup>22)</sup>はこの2段目の反応に MBR を用いているが、セロピオースの分子量がグルコースの2倍しかないため、両者を十分に分離できる膜は得られなかった。そこで、透過液を次の MBR の原液とする方式で3段の MBR を用い、セロピオースからグルコースへの転換率として91%という値を得ている。なおルント大学では MBR を用いず、2段目の反応の酵素と次の発酵用の酵母とを一緒にゲルに固定した固定化生体触媒を用い、セロピオースからのエタノール発酵を試みている。<sup>23)</sup>

一方 Kleiら<sup>24)</sup>は、1段目の反应用的 MBR と2段目用の MBR とを組み合わせた図4に示すシステムを用い、

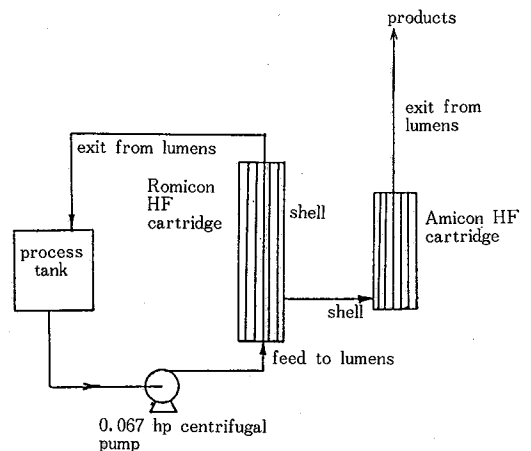


図4 セルロース糖化2段メンブレンバイオリアクターシステム<sup>24)</sup>

表4 各種発酵システムにおけるエタノール生産速度の比較<sup>29)</sup>

System	Feed	Sugar concentration (g/l)	Microorganism	Ethanol concentration (g/l)	Sugar utilization (%)	Productivity (g/l/h)	Reference
Batch	Glucose	100	<i>S. cerevisiae</i>	49	100	2.5	This work
	Glucose	250	<i>Z. mobilis</i>	102	80	3.4	Rogers et al. (1980)
	Lactose	150	<i>K. fragilis</i>	75	100	3.5	Mehaia and Cheryan (1984)
Continuous culture	Glucose	160	<i>S. cerevisiae</i>	31	38	4.1	Ghose and Tyagi (1979)
	Glucose	100	<i>Z. mobilis</i>	40	80	8.0	Rogers et al. (1980)
Immobilized	Glucose	197	<i>S. cerevisiae</i>	71	74	25	Ghose and Bandyopadhyay (1980)
	Glucose	100	<i>Z. mobilis</i>	44	97	29	Margaritis et al. (1981)
	Glucose	150	<i>Z. mobilis</i>	74	98	57	Klein and Kressdorf (1983)
Membrane recycle fermentor	Glucose	100	<i>Z. mobilis</i>	44.5	90	120	Rogers et al. (1980)
	Glucose	100	<i>S. cerevisiae</i>	49	100	100	Mehaia and Cheryan (1984)
	Lactose	150	<i>K. fragilis</i>	71	97	75	Cheryan and Mehaia (1983)
Hollow fiber fermentor	Lactose	50	<i>K. fragilis</i>	24	100	24	Mehaia and Cheryan (1984)
	Glucose	89	<i>S. cerevisiae</i>	12	27	26	Inloes et al. (1983)
	Glucose	100	<i>S. cerevisiae</i>	40	85	10	This work

セルロースからグルコースへの連続糖化をおこなっている。膜はどちらも中空糸膜で、第1段目ではセルロースと分解酵素が中空糸膜の内側を流れ、セロピオースは外側へ透過して生成物阻害が防がれている。第2段目のMBRには、中空糸膜の外側にアルミナ担体上に固定されたセロピオース分解酵素が詰められている。1段目から流入したセロピオースはこの部分を通るあいだにグルコースに分解され、膜を透過して中空糸の内側へ入り生成物として取り出される。

澱粉の糖化を目的としたMBRとしては、AzharとHamdy<sup>25)</sup>がさつまいも澱粉のアミラーゼによる糖化を報告している。

膜を透過しないその他の高分子基質については、プロテアーゼによる大豆たん白の加水分解にMBRを用いた結果が報告されている。<sup>26),27)</sup>

#### 4.2 発酵へのメンブレンバイオリアクターの応用

アルコール発酵によるバイオマスからのエネルギー生産では、発酵プロセスの効率を上げることが重要である。そこで酵素反応の場合と同様、生成物阻害防止のために生成物を連続的に取り出し、同時に菌体の流出を防ぎながら連続発酵をおこなう目的でMBRの利用が試みられた。すでに濾過型、透析型、拡散型MBRの結果が報告されている。

図2の形式の濾過型MBRについては、Taniguchiら<sup>28)</sup>が限外濾過膜のかわりに濾紙を用い、パン酵母によるグルコースの発酵を試みている。菌体流出がないため $10^9$ コ/ml以上の高い菌体濃度が得られ、エタノール生産速度の最大値は $26$  g/lhであった。中空糸膜を用いる図3の方式のMBRでは、やはりパン酵母によるグルコースからのエタノール生産速度として、 $27$  g/lhとほぼ同様の最大値が報告されている。<sup>29)</sup>この時の菌体濃度は $85$  g/lであった。また、遠心分離機を用いる菌体再利用発酵

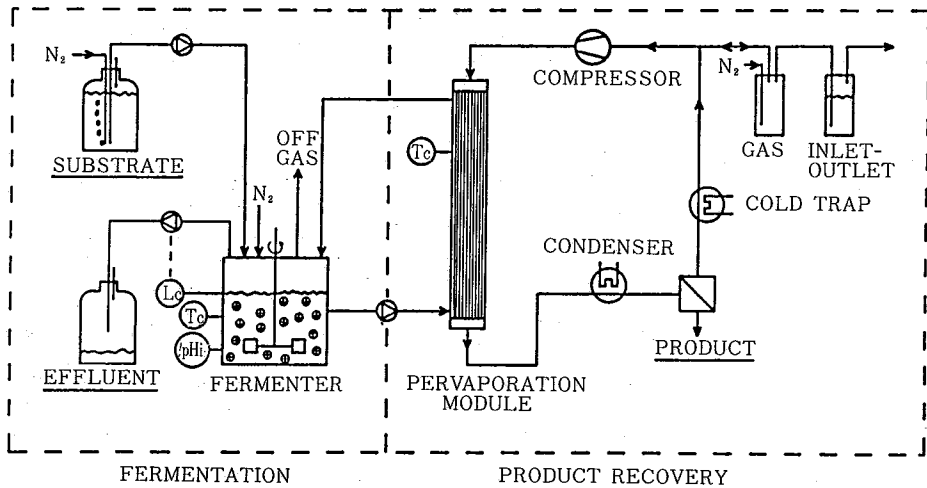
法としてよく知られているMelle-Boinot法と比べると、アルコール生産性は約2倍であった。<sup>30)</sup>

ラクトースからのエタノール発酵に同様の中空糸膜濾過型MBRを用いた結果も報告されている。<sup>31)</sup>

透析型MBRについては、乳酸-アンモニア発酵を対象に研究がなされていたが、<sup>32)</sup>同様なシステムがグルコースを基質とするエタノール発酵にも適用された。<sup>33)</sup>透析型MBRでは透析液側にグルコースが供給される。菌体増殖のために基質が使われないという利点があるが、今のところエタノールへの転換率や生産速度が小さく、実用的ではないようである。

拡散型MBRについては、Inloesら<sup>34)</sup>が研究をおこなっている。彼らは中空糸膜中(内側ではない)に酵母を封じ込め膜の内側にグルコースを流した。酵母はほぼ膜中の空間一杯に増殖し、その濃度は平均でも $3.5 \times 10^9$ コ/mlと高く、エタノール生産速度は最大 $26$  g/lhであった。これに対しMehaiaとCheryanは、<sup>35)</sup>中空糸膜と耐圧容器との間の空間に酵母を封じ込め、やはり膜の内側にグルコースを流すMBRについて検討している。彼らはこれまでに報告されている各種の発酵法について比較をおこなっているが、その結果を表4に示す。これより、前述した濾過型MBR(表ではMembrane recycle fermentor)が、糖の利用率、アルコールの生産速度のいずれにおいても非常に優れていることが明らかである。

濾過型MBRでは、生成アルコールと一緒に基質も膜を透過してしまうため、基質利用率を高くするには発酵液の滞留時間を長くすることが必要となる。しかしながら、長い滞留時間では今度はアルコールの生産速度が逆に小さくなってしまふ。アルコール発酵速度そのものは十分大きいので、もし基質を全く通さない膜で生成アルコールのみを連続的に取り出せば、基質利用率は100%でかつ大きな生産速度を得ることができよう。また、濾

図5 パーペーパーレーション型メンブレンバイオリアクターシステム<sup>37)</sup>

過型 MBR では通常限外濾過膜あるいは精密濾過膜が用いられるので、透過液のアルコール濃度は発酵液中のそれと等しく、生成物濃縮の機能はない。そこで、基質を流出させずに同時に生成物の濃縮機能をもつ MBR の開発が試みられている。

前述したように、気-液系の膜技術であるパーペーパーレーション法はアルコール濃縮ができるので、これを MBR に利用することが試みられた。もちろん、パーペーパーレーション膜は、酵母や基質を透過させない。アルコールを選択的に透過する膜としてはシリコンゴム膜がよく知られているが、この中空糸膜を用いたパーペーパーレーション型 MBR のブタノール発酵への利用が試みられた。<sup>36),37)</sup> 用いられた MBR システムを図5に示す。発酵液は中空糸膜の内側を流れ、透過蒸気は窒素ガスによってコンデンサーに運ばれ凝縮液として取り出される。生成物阻害を起こすブタノールを連続的に取り出すことで、グルコースからの転換率、アルコール生産性ともに通常の連続発酵法に比べ 65-70% も高くなった。

エタノール発酵については、疎水性多孔質膜のポリプロピレン中空糸膜を用いた MBR による発酵実験結果が報告されている。<sup>38)</sup> この場合は、膜がエタノール選択性をもたないので、透過蒸気のエタノール濃度は気液平衡関係で決まる。しかしながら、実験で得られた値はこの気液平衡濃度よりだいぶ低くなっており、今後の検討が必要であろう。多孔性ポリテトラフルオロエチレン膜を用いた同様の実験は、筆者らも報告している。<sup>39)</sup>

いずれのパーペーパーレーション型 MBR でも、発酵条件等の最適化はいまだおこなわれていないので表4の結果とは比較できないが、濃縮が可能な点はその後の蒸留濃縮プロセスでのエネルギー消費を減らすことを意味するので、今後この型の MBR の発展が期待される。

## 5. おわりに

バイオテクノロジーへの膜技術の応用として、現在最も大きな期待を集めているものは、やはりメンブレンバイオリアクターであろう。酵素反応用あるいは発酵用のいずれにおいても濾過型のものが主であるが、ここで問題となるのは、酵素や菌体あるいは高分子基質が膜面に付着層を形成することである。この付着層は大きな透過抵抗をもつために膜透過流束は著しく低下し、リアクターとしての効率が低下してしまう。付着層の形成は、液-液系膜技術のすべての応用分野に共通な問題点であるが、残念なことにいまだ抜本的な解決法は確立されていない。しかしながら、付着層形成の制御法は徐々に明らかになってきているので、濾過型メンブレンバイオリアクターが実用化される日も近いものと期待される。

夢のメンブレンバイオリアクターとなりうる可能性を秘めているパーペーパーレーション型メンブレンバイオリアクターを夢で終わらせないためには、何と言っても生成物選択性が著しく高くかつ膜透過流束の極めて大きな膜の開発が必要である。現在の高度な高分子合成技術や製膜技術をもってすれば、このような膜を作り出すことはもはやそれほど困難なことではないであろう。むしろ、これまでこのような膜の切実な必要性がなかったことが、いまだ実在していない原因なのではないであろうか。遺伝子工学によって作り出された高性能菌体を用い、高機能膜を使った夢のメンブレンバイオリアクターが現実のものとなる日はそう遠くはないのである。

(1985年5月17日受理)

## 参考文献

- 1) 干畑一郎, 土佐哲也, “バイオテクノロジーの新展開”,



- 化学増刊 103, 化学同人, p.164 (1984)
- 2) 福井三郎, 同上, p.3 (1984)
  - 3) 福井三郎, 干畑一郎, 鈴木周一編, “酵素工学”, 東京化学同人 (1981)
  - 4) 鈴木周一, 軽部征夫, 発酵と工業, 35, 17 (1977)
  - 5) 鈴木周一, 軽部征夫, 化学と工業, 31, 611 (1978)
  - 6) 軽部征夫, 化学工場, 27, 93 (1983)
  - 7) 鈴木周一, 軽部征夫, “バイオテクノロジーの新展開”, 化学増刊 103, 化学同人, p.193 (1984)
  - 8) 干畑一郎, 土佐哲也, BIO INDUSTRY, 1, 24 (1984)
  - 9) 萩原文二, 橋本光一編, “膜による分離法”, 講談社 (1975)
  - 10) 大矢晴彦編, “膜利用技術ハンドブック”, 幸書房 (1978)
  - 11) 妹尾学, 木村尚史, “新機能材料“膜””, 工業調査会 (1983)
  - 12) 清水博, 西村正人, “最新の膜処理技術とその応用”フジテクノシステム (1984)
  - 13) S.Kimura and A. Tamano, a paper presented in Europe-Japan Congress on Membranes and Membrane Processes, Stresa, Italy (1984)
  - 14) 木村尚史, 野村剛志, 膜, 8, 177 (1983)
  - 15) R. Y. M. Huang and N. R. Jarvis, J. Appl. Polym. Sci., 14, 2341 (1970)
  - 16) 福島達, 化学工学, 43, 263 (1979)
  - 17) 前田英勝, 膜, 9, 14 (1984)
  - 18) 古崎新太郎, 膜, 9, 93 (1984)
  - 19) T. K. Ghose and J. A. Kostick, Biotechnol. Bioeng., 12, 921 (1970)
  - 20) B. Hägerdal, M. López-Leiva and B. Mattiasson, Desalination, 35, 365 (1980)
  - 21) I. Ohlson, G. Trägårdh and B. Hahn-Hägerdal, Biotechnol. Bioeng. 26, 647 (1984)
  - 22) J. Hong, G. T. Tsao and P. C. Wankat, Biotechnol. Bioeng. 23, 1501 (1981)
  - 23) B. Hahn-Hägerdal, Biotechnol. Bioeng. 26, 771 (1984)
  - 24) H. E. Klei, D. W. Sundstrom, R. W. Coughlin and K. Ziolkowski, Biotechnol. Bioeng. Symp. Noll, 593 (1981)
  - 25) A. Azhar and M. K. Hamdy, Biotechnol. Bioeng., 23, 1297 (1981)
  - 26) W. D. Deeslie and M. Cheryan, J. Food Sci., 46, 1035 (1981)
  - 27) idem., Biotechnol. Bioeng., 23, 2257 (1981)
  - 28) M. Taniguchi, K. Wakamiya, M. Tsuchiya, R. Matsuno and T. Kamikubo, Eur. J. Appl. Microbiol., 18, 201 (1983)
  - 29) Y. Nishizawa, Y. Mitani, M. Tamai and S. Nagai, J. Ferment. Technol., 61, 599 (1983)
  - 30) Y. Nishizawa, Y. Mitani, K. Fukunishi and S. Nagai, J. Ferment. Technol., 62, 41 (1984)
  - 31) M. Cheryan and M. A. Mehaia, Biotechnol. Lett., 5, 519 (1983)
  - 32) R. W. Stieber and P. Gerhardt, Biotechnol. Bioeng., 23, 535 (1981)
  - 33) K. H. Kyung and P. Gerhardt, Biotechnol. Bioeng., 26, 252 (1984)
  - 34) D. S. Inloes, D. P. Taylor, S. N. Cohen, A. S. Michaels and C. R. Robertson, Appl. Environ. Microbiol., 46, 264 (1983)
  - 35) M. A. Mehaia and M. Cheryan, Appl. Microbiol. Biotechnol., 20, 100 (1984)
  - 36) W. J. Groot, C. E. van den Oever and N. W. F. Kossen, Biotechnol. Lett., 6, 709 (1984)
  - 37) W. J. Groot, G. H. Schoutens, P. N. van Beelen, C. E. van den Oever and N. W. F. Kossen, Biotechnol. Lett., 6, 789 (1984)
  - 38) 松本幹治, 大矢晴彦, 大胡素夫, 松本浩明, 化学工学協会第 50 年会, H 301 (1985)
  - 39) 斉藤史代, 中尾真一, 戸田清, 木村尚史, 生産研究, 37, 8, 320-323 (1985)

