報 文

[Nippon Nôgeikagaku Kaishi Vol. 75, No. 9, pp. 949~956, 2001]

工業的生産プラントでの酵素法によるシスチン生産

山本 泰, 藤田五男, 堀埜一成, 幸田 徹, 明石邦彦

(味の素(株)九州工場技術部)

(平成 12 年 12 月 4 日受理)

Enzymatic Production of Cystine in Commercial Plant

Yasushi YAMAMOTO,* Itsuo FUJITA, Issei HORINO, Tohru KOUDA, and Kunihiko AKASHI

Technical Department, Kyushu Plant, Ajinomoto Co., Inc.,

Morotomitsu 450, Morotomi, Saga-gun, Saga 840-2193

*Present address: Production Management Department Ajinomoto Co., Inc., 1-15

Kyobashi, 1-chome, Chou-ku, Tokyo 104-8315

For the enzymatic production of cystine in a commercial plant, the improvement of reaction process, the purification procedure and the removal process of hydrogen sulfide were studied. Fed-batch process was adapted to the enzymatic reaction and optimized. In the purification process, contaminating Fe ion was excluded from cystine products by adding chelating agent and the co-produced hydrogen sulfide was removed by an oxidation method. An improved process was realized in the industrial plant.

(Received December 4, 2000)

Key words: cystine; enzymatic reaction; Fe ion; hydrogen sulfide; industrial plant

緒 言

システインおよびその酸化型のシスチンは医薬品、化粧品、食品添加物など多種の用途に広く利用されている重要なアミノ酸である。システインは通常シスチンから電解還元法で還元し製造される。しかし、1982年に至るまで発酵法、酵素による変換法、もしくは化学合成法のいずれによっても工業化可能なシスチンの製造技術は開発されておらず、従来からの人毛、羽毛、獣毛を原料とする酸加水分解法に依存していた。この方法は人毛などの原料の調達が困難で、また酸分解による環境上の問題もあり、コスト的にも高くシスチン需要の増加に対応できないことが予想された。そこで商業的に安定して供給できる新しいシスチンの製造方法が求められていた。シスチンを安定的かつ安価に供給するため近代的な工業的新製法の開発に取り組む、

DL-2-アミノチアゾリン-4-カルボン酸(ATC)を原料とする酵素法で生産するプロセスを開発した^(1,2)。

微生物が生産した酵素(菌体内酵素であるが菌が部分的に溶菌し酵素の一部は培養液に漏出)を用いてATCをシステインに不斉水解すると同時に、非酵素的にシステインを酸化してシスチンを生産するものである^(1,2)。ATCからシスチンを生成する反応式をFig.

Fig. 1. Conversion of ATC into Cysteine and Cystine.

* ATC, DL-2-アミノチアゾリン-4-カルボン酸。

1 に示す。本プロセスでは酸素の供給が重要な因子であるが、過剰な酸素は酵素反応を阻害する⁽³⁾。筆者らは、低濃度の溶存酸素と相関関係が成り立つことが知られている酸化還元電位を測定し、極めて低い溶存酸素濃度を管理することにより高い反応速度と酵素の安定性を両立するプロセスを構築した⁽³⁾。

システインは ATC の不斉水解酵素とは別のシステイン分解酵素により分解され硫化水素を副生し、酵素反応を阻害し反応収率とともに反応速度を低下させること⁽³⁾、また硫化水素は人体に極めて有毒でもありいかに安全に経済的に無害化するかが工業化に当たっての大きな問題であった。そこで筆者らはシステイン分解活性の低い菌を育種し、硫化水素の発生を減らし反応収率を向上させた⁽⁴⁾。

工業的生産の場合には、生産性の向上と運転操作の最適化が求められる。発酵プロセスの生産性向上の方法として基質濃度を上げることが一般的に行われる。そこで本報では、反応収率が高いシステイン分解弱株を用い、基質を酵素反応の進行した過程で追加添加することにより基質濃度を高める方法（追加法と略す）の生産性について調べ、その際の運転操作を最適化するための管理手法を求め、工業化に当たって追加法の有効性を確認したのでその結果について述べる。また工業生産においては酵素反応によって生産されたシスチンを反応液から収率よく、高純度の製品として単離回収することが事業の採算性を決める大きな要素の一つである。シスチンは水に対し最も溶解度の低いアミノ酸の一つで、その溶解度は 25℃で 0.112 g/L、50℃で 0.239 g/L⁽⁵⁾と極めて低い。この性質を利用し、単離法としては結晶化法が最も容易で経済的な方法である。単離精製における課題は酵素反応液に残存しているシステインと菌体培養に由来する各種不純物の効果的な除去である。特に菌体の生育および硫化水素による酵素失活を防ぐために添加されている Fe イオン（65 mg/L、1.2 mM 相当）が問題であり、このうちの約 16%が反応液から晶析したシスチンの粗結晶に吸着し、結晶当たり 150 ppm 以上も含まれていることが判明した。この結晶を溶解し再結晶しても Fe イオンはほとんど淘汰除去されず製品結晶に移行し、品質の Fe 含量保証値 25 ppm 以下を達成できなかった。そこで再結晶における Fe イオンの淘汰方法について検討し、キレート剤の添加が有効であることを実

証した。酵素反応の過程で副生する硫化水素は臭気も強く、シアン化水素に匹敵する毒性をもち、500 ppm 以上のガス濃度では人命に危険とされている⁽⁶⁾。300 L 培養反応槽の実験では、反応槽からの排気ガス中に最高 8000~10,000 ppm 平均でも 2000 ppm と高濃度の硫化水素が検出された。菌の改良で発生濃度は 1/30 に減少したものの、労働安全衛生法で定められた作業環境基準の 10 ppm に比べるとまだはるかに高く、発生する硫化水素の除害は工業化の重要な課題であった。対応策としては硫化水素の処理技術として知られているタカハックス法、ベロックス法、燃焼法、乾式酸化法などの採用が考えられた。反応槽の酵素反応過程で発生する硫化水素の排気ガス中の濃度変動（数 ppm から 10,000 ppm）に適合し、安全に安定して操作、管理ができ、しかも菌の培養および酵素反応で発生する炭酸ガスの影響を受けない方法として吸着剤による吸着除去法が適切であると考えられた。本報ではシスチンの安定な工業生産に必要な酵素反応における生産性向上と反応管理の最適化、高品質な製品の製造に求められる不純物の淘汰方法、特にシスチン結晶からの Fe イオンの除去法、および酵素反応で発生する猛毒な硫化水素の除去法について工業生産プラントで実証した結果を報告する。

実 験 結 果

1. 試験生産設備

シスチンの試験生産設備は、主に培養反応槽と、これに種培養液や ATC を供給する槽、反応液から結晶を取り出す晶析槽と分離機、乾燥機、および硫化水素を除去する乾式脱硫装置からなる。Fig. 2 に設備の概要を示す。

2. 種培養液の調整

グルコース 70 g, KH_2PO_4 3.5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.75 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.035 g, $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.42 g, 脱脂大豆分解液（全窒素 60 g/L）84 mL を水道水で 3.5 L とし、苛性ソーダ溶液で pH5.8 に調整した液を 1 段目の種培地として、5 L ジャーファーメンターに張り込み、120℃で 15 分間殺菌した。これに使用菌株を接種し、菌体濃度指標 0.3 まで 31℃で培養した。同様にして調整した 2 段目の種培地 3.5 kL を 10 kL の種培養槽に入れ、1 段目と同殺菌条件で殺菌した。

これに 1 段目の菌体培養液を植菌し、2 段目種培養

Fig. 2. A System for L-Cystine Production in Commercial Plant.

も同様にして 31℃で行い、培養菌体濃度指標が 0.3 になった時点で主培養用培地に植菌した。

3. 主培養用培地および反応液

グルコース 20 g/L, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 3 g/L, KH_2PO_4 2 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1 g/L, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.02 g/L, $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1.14 g/L, 脱脂大豆分解液 10 mL/L, pH 7.0 となるように水道水で調整した主培養用培地 72.5 kL を Fig. 2 に示す培養反応槽に入れ 120℃, 15 分間殺菌して用いた。主培養用培地に 2 段目種培養液を植菌し 26℃で培養し、菌体濃度指標 0.3 になったところで、酵素誘導のために別に殺菌しておいた ATC を 5 g/L (34.2 mM) の濃度になるように添加した。この培養液の菌体濃度指標が 0.6 となったところで、ATC 追添法の実験区として、まず培養反応液の ATC 濃度が 100 g/L (0.68 M) になるように ATC を加え、反応液の ATC 濃度が 80 g/L を下回った時点で 35 g/L の濃度分の ATC を追加添加した。ATC 追加添加時の反応液量は Fig. 2 に示した。

4. 酵素反応およびシスチンの製品化

通気量により酸化還元電位を制御しながら酵素反応させ、これより得られたシステインを酸化してシスチンの反応液を得た。培養から ATC の水解反応およびシスチンへの酸化反応はすべて培養反応槽で行った。反応液の容量は 120 kL になった。

この反応液から結晶化したシスチンを分離し、得られた粗結晶を塩酸酸性溶液に溶解し活性炭で脱色後、キレート剤を加え Fe イオンの取込みを抑制しながら

20% 苛性ソーダ溶液で中和し、シスチンを再結晶化し、分離、乾燥などの工程を経て製品シスチンを生産した。反応槽からの硫化水素を含む排気は乾式脱硫法処理し硫化水素を安全に除去した。

5. 使用菌株

システイン分解活性の低下した菌株 (*Pseudomonas desmolytica* AJ-11071) を用い、既報⁽³⁾の方法で調整した。

6. 分析方法

酵素活性、基質や反応物の濃度、菌体濃度などは、既報⁽³⁾の方法で分析した。

7. キレート剤の添加による鉄イオンの結晶への吸着抑制効果の測定方法

シスチン 40 g を 4% HCl 溶液約 450 mL に溶解し、塩化第二鉄を Fe 換算で 40 ppm 相当量を加え、蒸留水で 500 mL に調整し試料 1 とした。次に同様にして調整したシスチン溶液に Fe イオンと当モル量のキレート剤を添加した。キレート剤としては EDTA と食添用のクエン酸を選び別々に添加し、蒸留水で 500 mL に調整して試料 2, 3 とした。試料 1, 2, 3 は別々に 1000 mL 容のビーカーに移し、35℃恒温槽に固定して、テフロン製の攪拌羽根で攪拌しながら (回転数 150 rpm), 20% 苛性ソーダ溶液を徐々に添加し、約 4 時間を要して中和晶析した。3 実験区ともに晶析 pH と Fe イオンの吸着率の関係を調べるために酸性側から中性領域まで pH の変化に応じて晶析液を約 40 mL 採取し、結晶をろ紙でろ別し蒸留水で洗浄、乾燥

し結晶試料とした。試料を4% HCl 溶液約 80 mL に溶解し、蒸留水で 100 mL に調整して分析に供した。Fe 濃度は原子吸光法で分析した。

8. 硫化水素の吸着除去率の測定

内容積 150 L の円柱型鉄製容器 (内径 50 cm, 高さ 80 cm) で、底部に直径 5 mm の多孔板の目皿を設け、その上に脱硫剤 25 kg を充填した密閉塔に下部からガスを導入し上部から排出するよう導入管と排出管を設け、各々にガスのサンプリングノズルをつけた脱硫試験設備を試作し、2.5 kL の発酵槽に設置した。脱硫剤は Fe_2O_3 を主成分 (55~60%) とした粘土を直径 10 mm, 長さ 20~30 mm の円形状押し成型品で、水分 10~15% に乾燥したものである。ATC を用い酵素誘導, 酵素反応, 酸化, 中和, 硫化水素追出しと一連の発酵過程で発生する硫化水素の濃度と量および脱硫塔の排出ガス中の硫化水素濃度を測定し硫化水素の吸着除去率を測定した。また実験後脱硫塔を解体し充填した脱硫剤の性状, 変化を調べ吸着性能を推定した。

実験結果および考察

1. 追加法における酸化還元電位の生産性に対する影響

反応開始時の ATC 濃度を 100 g/L (0.68 M) にし、35 g/L 相当量を追加添加して反応系の ATC 濃度を 135 g/L (0.92 M) に高めた条件で、酸化還元電位を変えて反応収率, 生成シスチン濃度, 反応時間, シスチンの生産性などを調べた。その実験結果を Table 1 に示した。通気量を調整しながら酸化還元電位を -390~-420 mV に制御した条件で、最も高い生産性が得られた。酸化還元電位の高い -360~-380 mV の条件では酸素による酵素の失活がにより反応後半の反応性が低下した。また、酸化還元電位の低い条件ではシステインの酸化が制限されてシステイン濃度

が上昇した結果, ATC 水解速度が低下し, 全体の反応速度が低下したと考えられる。追加法は高い生産性で、より高濃度の基質濃度の酵素反応を可能にしたことで反応槽 1 バッチ運転当たりのシスチン生産量が増加し、設備生産性を高めたと言える。またシスチンの蓄積濃度が高くなることは、反応液のシスチン溶解度が一定であるので、蓄積濃度と溶解度の濃度差が結晶として晶析回収され単離精製工程での製品回収率を高めことが期待できる。追加法は経済的に有利であることがわかり工業化プロセスとして採用した。

2. 反応後期での通気量の制御方法

追加法での反応後期に、反応液中の ATC 濃度が 20 g/L (0.14 M) 以下になると酸化還元電位が高くなり、これを制御範囲に調整するには通気量を常に修正する必要があった。しかしながら、通気量の調整が不十分で酸化還元電位が上昇すると、酸素によって酵素は失活して ATC が残存した。ATC の残存は、反応収率が低下するだけではなく、単離精製における不純物となり単離精製収率を低下させることになる。反応後期において酵素の失活を防ぐことはシスチンの生産にとって非常に重要である。反応後期の酸化還元電位の上昇は、ATC の濃度の低下によって ATC の水解速度が低下しシステインの生成も低下する。そのため反応系のシステインの酸化量が減少し溶存酸素量が上昇することによると考えられた。それを立証するために反応液中の ATC 濃度と ATC 水解速度の関係を出し、その結果を Fig. 3 に示す。

この近似値から K_m と $V_{\max}$ を算出したところ $K_m = 11.1$ g/L, $V_{\max} = 5.5$ g/L $\cdot$ h と予想どおり、どちらも高く、反応後期の ATC 濃度の低下によって ATC の水解速度が低下することが確かめられた。この結果をもとに、反応液中の ATC 濃度から反応に必要な酸素供給条件を求められると考え、以下のように考察した。

Table 1. 追加法での制御溶存酸素濃度とシスチン生産性

追加法	ATC 濃度 (g/L)	酸化還元電位の制御値 液電位 (mV)	反応途中の液中 システイン濃度 (g/L)	シスチン蓄積	シスチン モル収率 (%)	残存 ATC (g/L)	反応時間 (h)	シスチン 生産性 (kg/L/h)
	135 (0.92 M)	-360~-380	0.5~1.0	98.5 (0.41 M)	89	2	56	1.8
	135 (0.92 M)	-390~-420	3~5	105.0 (0.44 M)	96	0	36	2.9
	135 (0.92 M)	-440~-466	8~12	95.1 (0.40 M)	87	2	63	1.5

いま、反応液中 ATC 濃度を S_0 、ATC の消費速度を V_a とすれば

$$V_a = 5.5[S_0]/([S_0] + 11.1) \quad (1)$$

となる。

反応液中のシステイン濃度はほぼ一定に保たれているので、反応系全体の反応速度はシステインの酸化速度に依存し、式(2)が成立する。

$$V_t = k_1 OCR \quad (2)$$

V_t はプロセス全体におけるシスチン生成速度 ($g/L \cdot h$)、 OCR は酸素消費速度、 k は定数である。

また、反応液中の酸素濃度は極めて低くほとんど変化しないため、 OCR は酸素移動速度 (OTR) に等し

Fig. 3. Relationship between ATC Concentration and ATC Consumption Rate in Enzymatic Reaction.

Fig. 4. Relationship between Air Flow Rate and the Production Rate of L-Cystine.

く、酸素移動速度係数 ($K_L a$) に比例する。すなわち

$$V_t = k_2 K_L a \quad (3)$$

一方、 $K_L a$ と通気速度との間には式(4)のような関係があるとされているので⁽⁷⁾、式(5)が成立する。

$$K_L a = k_3 Q^c \quad (4)$$

$$V_t = k_4 Q^c \quad (5)$$

ここで Q は通気速度、 c は定数である。

反応実験での通気量と反応速度の関係を Fig. 4 に示す。この結果を(4)式で近似すると、 k_4 と c が得られた。

$$V_t = 0.35 Q^{0.54} \quad (6)$$

一方、(1)式において ATC 濃度と ATC 消費速度が求められている。ここで、(1)式の ATC 消費速度 V_a と(2)式のシスチン生成速度 V_t は比例するから(1)式における S_0 より、(6)式における Q を求めることができる。

いま、 $V_a = k_0 V_t$ とすれば $k_0 = V_t/V_a = 120/146$ (分子量比、ただしシスチンは 1/2 分子量とした) よって、 $5.5[S_0]/([S_0] + 11.1) = 120/146 \times 0.35 Q^{0.54}$ となり反応液中の ATC 濃度からその時点の最適な通気量を推測することができることになる。

3. ATC 濃度を指標とした通気量の制御方法の検証

反応 20 時間以降の通気量を ATC 濃度から推定した最適通気量に設定する方法を採用し、反応を行った。20 時間以降の反応時間における ATC 濃度と空気流量、システイン濃度、シスチン濃度の結果を Fig. 5

Fig. 5. Air Flow Rate and the Concentration of ATC and Cysteine at the Late Stage of Reaction.

Determinations were straight line, air flow rate; ○, ATC concentration; ●, cysteine concentration; □, cystine concentration, respectively.

に示す。この制御方法で途中の酸化還元電位を $-390 \sim -420$ mV の範囲に保ち、36 時間で 135 g/L (0.92 M) の ATC が消費され、105 g/L (0.44 M) のシスチンが生産され、シスチン収率 96% の結果を得た。ATC 濃度から最適な通気量を求める方法は、工業的な管理手法として採用可能であることがわかった。

4. シスチン結晶の鉄イオンのキレート剤による淘汰

シスチン結晶から Fe の淘汰を目的にシスチンの晶析におけるキレート剤の添加効果を調べた。キレート剤としては代表的な EDTA と食添用のクエン酸を選び効果を比較した。初発の試料中の全 Fe イオンが溶解している全シスチンに取込まれたと仮定したときの Fe 含有率を 100% として、各 pH で得られたシスチン結晶の Fe 含有率を除して、結晶への Fe の取込み率を算出した。この結果を Fig. 6 に示す。

シスチンは水酸化ナトリウム溶液の添加により pH 0.7 近傍から結晶化が始まり、pH の上昇とともに結晶化が進む。キレート剤無添加の場合は、pH 2.5 すでに析出したシスチン結晶への Fe の取込み率は 50%, pH 5 以上で 90% 以上になった。pH 上昇とともに鉄イオンの結晶への取込み率が上昇した。これは第二鉄イオン (Fe^{3+}) の特性と関係していると推測した。塩化第二鉄溶液の各 pH における Fe^{3+} の溶解度を測定した結果、pH 2.8 以上で急激に低下し、pH 3.5 以上の領域では数 ppm 以下であった。 Fe^{3+} は水酸化ナトリウム溶液で中和され pH が上昇すると $[\text{Fe}(\text{OH})_3]_n$ を形成し、その溶解度は $[\text{Fe}][\text{OH}] = 10^{-38}$ と極めて低いことが報告されている^(8,9)。

塩化第二鉄は水処理の凝集剤と知られ、その作用機作は Fe^{3+} が $[\text{Fe}(\text{OH})_3]_n$ のコロイドを形成し、その吸着性が強いことによると考えられている。 Fe^{3+} は $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ の水和物として存在し、NaOH の中和により水素イオンが離脱し、錯体が形成され、pH の上昇とともにその反応が進み多核重合してコロイド化が進むとされている^(10,11)。シスチン塩酸溶液系で pH の上昇と共にシスチン結晶への Fe の取込み率が上昇したことは、pH 上昇とともに Fe^{3+} イオンのコロイド化が進み、その強い吸着力のためにシスチン結晶への吸着が増加したと考えられる。キレート剤を添加した場合、Fe の取込み率は 20% 程度で、pH が上昇しても変わらなかった。このことはキレート剤が Fe^{3+} イオ

Fig. 6. Relationship between Crystallization pH and Fe Distribution Ratio.

Determinations were ▲, no addition; ■, EDTA; ◆, citric acid, respectively.

Table 2. 各工程での硫化水素の発生と脱硫塔での除去

経過時間 (h)	脱硫塔 H_2S 濃度 (ppm)		通気量 (Nm^3/h)
	入口	出口	
酵素誘導	2 >	0	38
酵素反応	0~3	8000~7500	1
	3~5	6000~4000	2.5
	5~6	4000~1400	4
酸化	3	150~0	38
中和		0	0
硫化水素追出し	0~1	550~250	38
	1~2	250~100	38
	2~3	100~20	38

※硫化水素の濃度は北川式検知管法で測定した。

ンのコロイド形成を抑制することでイオンの吸着力が弱化したものと考えられる。クエン酸の場合に pH 上昇でわずかに増加しているのは EDTA に比べてキレート力が弱いためと推定した。Fe³⁺ イオンのコロイド化特性およびシスチンの溶解度を考慮し、シスチンの晶析最終 pH は 3.0 以下とした。

5. 硫化水素の除去について

酵素反応によるシスチン生産過程での硫化水素の発生状況と脱硫塔の除去率について実験結果を Table 2 に示す。発生した硫化水素の濃度は最高 8000 ppm、最低 20 ppm と大きな幅があったが、吸着脱硫塔の排出口では硫化水素は全く検出されなかった。また排出口の排ガスの臭覚テストでも硫化水素の臭気は感知されなかったことで、本方法で硫化水素の除去が十分に可能であり、法規で定める作業環境基準 10 ppm 以下を達成できることを確認した。

発生した硫化水素の量を計算すると、酵素反応工程で約 1.66 mol、また中和後の硫化水素追出して約 1.09 mol の合計 2.75 mol が発生し吸着されたことになる。実験後に脱硫塔内の脱硫剤を取り出し調べたところ、入口付近の脱硫剤約 3.5 kg が反応し表面が黒色に変化し、他の部分には変化が見られなかった。この 3.5 kg の吸着剤に硫化水素 2.75 mol が吸着したとすると吸着剤の吸着能力は 2.75 wt% となった。

反応培養槽の試験設備容量は 60 kL で本試験で使用する培養槽 2.5 kL の 24 倍の容量に相当し、硫化水素の発生量も同等量と推定した。試験設備用の脱硫塔は培養槽のスケールアップと比例させ 24 倍の 3.6 m³ の容量でよいことになる。しかし安全率を考慮し、また脱硫剤の吸着容量を効率的に利用することも考えあわせ、1 塔 5 m³ の容量の脱硫塔を 3 塔直列に構成し、脱硫剤は吸着能を 2% に設定し 1 塔当たり 1000 kg 充填し使用した。現在まで全く問題なく安全に生産運転を続けている。

6. 生産概況

本プロセスは、味の素株式会社 九州工場にて稼働しており、発生する硫化水素も乾式吸着法で完全に除去されている。本プロセスからは年 800 トンの高品質のシスチンが市場に供給され、人毛などからの抽出によらない安定供給が可能な生産プロセスとしての役割を果たしている。

要 約

シスチンの安定な工業生産に必要な酵素反応における生産性向上と操作条件の最適化、高品質な製品の製造に求められる不純物の淘汰方法、および副生する有害な硫化水素の除去方法について検討した。酵素反応における追加法は高い生産性を維持し高い基質濃度の反応を可能にした。これは反応槽の生産量の増加に寄与し設備生産性の向上に好ましい結果を得た。また追加法において、ATC 濃度を指標に通気量を管理することによって反応後半の酸化還元電位を最適範囲に保持する手法を開発することができた。この手法は通気量を手動でコントロールすることにより微妙な酸化還元電位を調節しつつ反応の最適化を図る方法より簡便であり、実際の設備運転上有利な手法である。さらに単離精製工程で問題となった製品の Fe イオンの高い含有量をキレート剤の添加で減少させ、高品質の製品の製造を可能にした。工業生産で安全上大きな問題である酵素反応で発生する硫化水素を安全に安定して除去する乾式脱硫法を工業化し、一貫した新規のシスチン製造プロセスをつくりあげ工業生産プラントで実証した。

謝 辞 本研究を遂行するにあたり、多大なご指導をいただきました九州大学大学院農学研究院遺伝子資源工学部門・遺伝子資源開発講座・微生物遺伝子工学分野教授の緒方靖哉博士、ならびに本研究の開発、工業化試験にご協力をいただいた研究所、工場の皆様に心から感謝を致します。

- (1) K. Sano and K. Mitsugi: *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 2315-2321 (1978).
- (2) K. Sano, C. Eguchi, N. Yasuda, and K. Mitsugi: *Agric. Biol. Chem.*, **43**, 2373-2374 (1979).
- (3) 山本 泰, 明石邦彦, 小林忠雄, 宇田川 隆, 藤田五男: 農化, **73**, 1167-1172 (1999).
- (4) 山本 泰, 小林忠雄, 宇田川 隆: 農化, **74**, 891-895 (2000).
- (5) The MERCK INDEX ELEVENTH EDITION, p. 2784 (1989).
- (6) 堀口 博著: “公害と毒・危険物(無機編)”, 共立出版, 1971.
- (7) Stanbury *et al.*: “発酵工学の基礎”, 学会出版センター.
- (8) W. F. Linke: “Solubilities of Inorganic and Metal Organic Compounds,” American Chemical Soc.,

956 山本 泰, 藤田五男, 堀埜一成, 幸田 徹, 明石邦彦

[*Nippon Nōgeikagaku Kaishi*

1958.

(9) bid, 原典 Gromov: *Zhur. Priklad. Khim*, **21**, 261
(1948).

(10) 上野景平: “入門キレート化学”, 南江堂, 1977.

(11) 上野景平ほか: “キレート化学 (3) 平衡と反応編”,
南江堂, 1988.