

明 細 書

発明の名称：

酸化還元電位を用いた測定対象系の動態推測用システム

技術分野

[0001] この明細書に記載される発明のひとつは、酸化還元電位を用いた測定対象系の動態推測用システムに関する。

背景技術

[0002] 特開 2 0 0 7 - 3 3 3 4 4 号公報（特許文献 1）には、酸化還元電位測定装置が記載されている。この文献に記載される酸化還元電位測定装置では、例えば、測定電極として白金電極が用いられ、比較電極として銀/塩化銀電極が用いられている。また、この文献では、比較電極は、様々な種類のものをいずれか 1 本用いることができることが記載されている（段落 [0030]）。

[0003] 例えば、微生物の培養条件を、酸化還元電位測定装置を用いて推測する場合、培養液が好気性か嫌気性といった指標が得られる程度であった。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献 1：特開 2 0 0 7 - 3 3 3 4 4 号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] この明細書に記載されるある発明は、培養液が好気性か嫌気性かという情報のみならず、培養操作の判断および培養液の様々な条件の最適化を行うためのデータを提供することができる、測定対象系の動態推測用システムを提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0006] この明細書に記載されるある発明は、基本的には、複数種類の作用電極（

測定電極)を用いて、参照電極との間での酸化還元電位を測定することで、測定対象系の動態推定を行うことができるという知見に基づく。

[0007] この明細書に記載される最初の発明は、測定対象系の動態推測用システムに関する。測定対象系の動態推測用システム1は、参照電極3と、第1の作用電極5と、第1の作用電極とは、少なくとも材質又は表面加工が異なる第2の作用電極7と、第1の作用電極及び第2の作用電極とは、少なくとも材質又は表面加工が異なる第3の作用電極9と、情報記憶部11と、を有する。

[0008] 情報記憶部11は、
参照電極と第1の作用電極における酸化還元電位に関する第1の電位情報
、
参照電極と第2の作用電極における酸化還元電位に関する第2の電位情報
、及び
参照電極と第3の作用電極における酸化還元電位に関する第3の電位情報を受取り、第1の電位情報、第2の電位情報、及び第3の電位情報を含む情報を記憶するための要素である。

[0009] 上記のシステムは、測定対象系の動態を推測するために用いることができるシステムである。つまり、各種条件を調整した対象(例:培地)に対して、第1の電位情報、第2の電位情報、及び第3の電位情報を含む情報を得ることで、測定対象系の動態に関する分析を行うために用いられる情報を集めることができることとなる。このデータは、例えば、機械学習等に用いることができる多変量データである。

[0010] 動態推測部13は、情報記憶部が記憶した第1の電位情報、第2の電位情報、及び第3の電位情報を用いて、対象となる系の動態を推測するための要素である。

[0011] このシステムの好ましい利用例は、生物を含む系における動態を推測し、最適化の方法を提示あるいは自動的に最適化を行うために用いられるシステムである。

発明の効果

[0012] この明細書に記載されるある発明は、培養液が好気性か嫌気性かという情報のみならず、培養操作の判断および培養液の様々な条件の最適化を行うためのデータを提供することができる。

図面の簡単な説明

[0013] [図1]図1は、測定対象系の動態推測用システムの構成例を示すブロック図である。

[図2]図2は、コンピュータの基本構成を示すブロック図である。

[図3]図3は、実施例の培養および測定系の概要図である。

[図4]図4は、実施例で行なった培養のうち代表的な培養結果と時系列データを示す図面に代わるグラフである。

[図5]図5は、実施例で行なった乳酸生産効率に対する決定係数の比較を示す図面に代わるグラフである。

発明を実施するための形態

[0014] 以下、図面を用いて本発明を実施するための形態について説明する。本発明は、以下に説明する形態に限定されるものではなく、以下の形態から当業者が自明な範囲で適宜修正したものも含む。

[0015] 図1は、測定対象系の動態推測用システムの構成例を示すブロック図である。測定対象系の動態は、測定対象となる系の最適化条件や、各種変動を含む。測定対象系の動態の例は、測定対象となる系に生息する生物の生存状況、活動状況、散乱状況、増殖状況、発酵状況、所定の代謝物の量、分解物の量、所定の目的のために好ましい状況、所定の目的のために好ましくない状況、などである。

[0016] 図1に示されるように、測定対象系の動態推測用システム1は、参照電極3と、第1の作用電極5と、第2の作用電極7と、第3の作用電極9と、情報記憶部11とを有する。この状態では、最適化条件を求めるためのデータを情報記憶部11に記憶することができる。このシステム1は、最適化条件推測部13をさらに有していてもよい。最適化条件推測部13が、情報記録

部 1 1 に記録されたデータを読み出して、各種解析を行うことにより最適化条件を推測できる。第 2 の作用電極 7 は、1 の作用電極とは、少なくとも材質又は表面加工が異なる電極を意味する。第 3 の作用電極 9 は、第 1 の作用電極及び第 2 の作用電極とは、少なくとも材質又は表面加工が異なる電極を意味する。

[0017] 作用電極 5, 7, 9 は、測定対象に作用させ、参照電極 3 との間の酸化還元電位を測定するための電極である。作用電極は、少なくとも 3 本である。システム 1 は、3 本以上（例えば、4 本、5 本、6 本及び 7 本）の作用電極を含んでもよい。複数の作用電極は、それぞれが絶縁されていることが好ましい。そして、それぞれの作用電極と、参照電極 3 との間に設けられた電圧計により、電位差を独立に測定できるようにされているものが好ましい。

[0018] 作用電極は、対象物（通常は液体を含む）と接触でき、導電性を有するものであればよい。それぞれの作用電極は、少なくとも材質又は表面加工が異なる。作用電極の材質の例は、白金、金、炭素、炭素同素体（ガラス状カーボン、ダイヤモンド、グラフェン、カーボンナノチューブ、フラーレン）、及び合金である。材質が異なるには、組成比が異なるものも含まれる。表面加工が異なるには、電極の表面粗さが異なる、電極表面の原子配置が異なる、形状が異なるものが含まれる。それぞれの作用電極の形状は、用途に応じて適宜調整すればよい。

[0019] 測定対象系の動態推測用システム 1 は、コンピュータ支援システムであることが好ましい。このシステムは、基本的にはコンピュータ（及びソフトウェア）により実装される。このシステムは、コンピュータにより自動的に処理がなされるシステムであることが望ましい。また、このシステムは、ユーザからの入力があった場合、その入力をも情報のひとつとして処理することができるものであってもよい。本明細書における各要素や部で表さされる要素は、コンピュータにおける各種処理を行う手段として機能する。

[0020] 図 2 は、コンピュータの基本構成を示すブロック図である。この図に示されるように、コンピュータは、入力部 2 1, 出力部 2 3, 制御部 2 5, 演算

部 2 7 及び記憶部 2 9 を有しており、各要素は、バス 3 1 などによって接続され、情報の授受を行うことができるようにされている。例えば、記憶部には、制御プログラムが記憶されていてもよいし、各種情報が記憶されていてもよい。入力部から所定の情報が入力された場合、制御部は、記憶部に記憶される制御プログラムを読み出す。そして、制御部は、適宜記憶部に記憶された情報を読み出し、演算部へ伝える。また、制御部は、適宜入力された情報を演算部へ伝える。演算部は、受け取った各種情報を用いて演算処理を行い、記憶部に記憶する。制御部は、記憶部に記憶された演算結果を読み出して、出力部から出力する。このようにして、各種処理が実行される。この各種処理を実行するものが、各手段である。

- [0021] 情報記憶部 1 1 は、
参照電極と第 1 の作用電極における酸化還元電位に関する第 1 の電位情報
、
参照電極と第 2 の作用電極における酸化還元電位に関する第 2 の電位情報
、及び
参照電極と第 3 の作用電極における酸化還元電位に関する第 3 の電位情報
を受取り、第 1 の電位情報、第 2 の電位情報、及び第 3 の電位情報を含む情報
を記憶するための要素である。
- [0022] コンピュータの記憶部 2 9 が、情報記憶部 1 1 として機能する。各作用電
極に対応する電圧計が、コンピュータの入力部 2 1 に測定した電圧（したが
って酸化還元電位）に関する情報を入力する。すると、コンピュータは、情
報記憶部 1 1 に入力された電位情報を記憶する。
- [0023] 上記のシステムは、系の動態を推測するために用いることができるシステ
ムである。つまり、各種条件を調整した対象（例：生物を含む培養液）に対
して、第 1 の電位情報、第 2 の電位情報、及び第 3 の電位情報を含む情報を
得ることで、系の動態に関する分析を行うために用いられる情報を集めるこ
とができる。このデータは、例えば、機械学習等に用いることができる多変
量データである。

[0024] 動態推測部 13 は、情報記憶部が記憶した第 1 の電位情報、第 2 の電位情報、及び第 3 の電位情報を用いて、対象となる系の動態を推測するための要素である。

[0025] 上記のシステムは、測定対象系に関する情報である測定対象系情報をさらに受取り、受け取った測定対象系情報と、上記した第 1 ～第 3 の電位情報とを用いて、対象となる系の動態を推測するものであってもよい。測定対象系情報は、例えば、各種センサを用いることで入手できる。測定対象系情報の例は、温度、湿度、気圧、培養液の濁度、酸性度、対象物質の濃度、及び対象物質の有無である。また、上記のシステムは、系を変化させたことに関する情報（例えば、滴下した物質の量や濃度）に関する情報である系変化情報を記憶してもよい。記憶した、系変化情報、測定対象系情報と、第 1 ～第 3 の電位情報とを用いることで、系を変化させた際の、測定対象系情報と、第 1 ～第 3 の電位情報との相関関係を求めることができる。そのような相関関係の解析を繰り返し行うことで、測定対象系の動態を推測できる。

[0026] 例えば、上記のシステムが、対象となる培養液の濁度（例えば、OD660）の動態を推測する場合を考える。この場合、上記のシステムは、対象となる培養液に対し、光を照射する分光分析装置から、光吸収に関する情報を温度や pH などの情報とともに受け取る。この際に、システムは、上記したとおり、これらの情報と合わせて、第 1 の電位情報、第 2 の電位情報、及び第 3 の電位情報を含む情報を記憶する。そして、記憶された複数のデータを多変量データとして用いて、解析を行わせ、OD660 の動態を推測する。さらに推測された動態が好ましくない場合には pH や温度を変化させた場合の動態を同様に推測することができる。このようにして、このシステムは、測定対象系の動態を推測し、最適な培養を支援できる。

[0027] 例えば、上記のシステムが、対象となる生産物の濃度（例えば、発酵による乳酸生産）の動態を推測する場合を考える。この場合、上記のシステムは、対象となる培養液の乳酸濃度を定量したデータを、温度や pH などの情報とともに受け取る。この際に、システムは、上記したとおり、これらの情報

と合わせて、第1の電位情報、第2の電位情報、及び第3の電位情報を含む情報を記憶する。そして、記憶された複数のデータを多変量データとして用いて、機械学習を行わせ、乳酸濃度の時系列変化とその他のデータの時系列変化との相関を導き出す。この学習器を用いることで、培養中に取得しうるデータから乳酸濃度の動態を推測することができる。さらに推測された動態が好ましくない場合にはpHや温度を変化させた場合の動態を同様に推測することができる。このようにして、このシステムは、測定対象系の動態を推測し最適な生産を支援できる。

[0028] このシステムの好ましい利用例は、生物を含む系における最適条件を推測するために用いられるシステムである。

[0029] 以下、本発明のシステムの利用例について説明する。

[0030] 水系のモニタリング

生命活動に伴う水系の多次元の酸化還元電位変化を多次元にモニタリングすることができる。様々な事象における複数電極からの電位情報を記憶し、多変量データとする。その多変量データを、機械学習させることで、パターンニングをするなど様々な分析を行うことができる。

[0031] 生物現象の記述

活性分子種と言われる酸素、窒素、硫黄のほか、各種微量元素は、様々な酸化還元状態を取り、その多次元の酸化還元状態を複数種類の導電体電極電位で計測することで、生物現象をより詳細記述できる。

[0032] 微生物ものづくり

微生物により物質を生産する過程では、原料となる成分と微生物の生命活動を営むために必要な培養液中の様々な成分を消費し、分解・生成する過程で、培養液中の酸化還元状態は多変量に変化する。複数電極からの電位情報を記憶し、多変量データとする。その多変量データを、機械学習させることで、パターンニングをするなど様々な分析を行うことができる。例えば、微生物が死滅した場合の電位情報を用いて、機械学習によりパターンニングをする。そして、新たな系の電位情報が、そのパターンニングした電位情報と相関が

あるなど、関連性を示す場合に、系の状況を変化させることで、微生物が死滅する事態を防止できる。

[0033] ビール

原料となる大麦やホップや仕込み水、ビール酵母などの状態によって、発酵工程の酸化還元状態は異なる。発酵時の温度を変えることによっても酸化還元状態は変わるし、その結果としてのビールの仕上がりも変わる。電位情報をモニタリングすることで、発酵状況を把握できる。例えば、通常発酵時の電位情報をデータとして記憶し、機械学習させる。そして、新たな系の電位情報が、機械学習した電位情報のパターンと異なる場合、発酵条件が正常ではなく、ビールの品質が変化する事態が想定される。このように、複数の電位情報をデータとして用いることで、ビールなど飲料の品質を一定に保つことができる。飲料の例は、ワイン、日本酒、ウィスキーを含むアルコール、発酵を伴う飲料（飲むヨーグルトなど）である。

[0034] 発酵調味料

醤油、味噌、麴、味醂、酢など発酵調味料

原料となる大豆、小麦、コメ、麴、酵母と温度と酸化還元状態と製品の仕上りを管理できる。

[0035] 有機性排水処理

排水処理には複合微生物系が関与しているので、電位情報を用いることで、有機性排水の処理状況を把握できる。

[0036] 抗体医薬

例えば、CHO細胞（動物細胞）を用いた抗体（タンパク質）生産において、電位情報を用いることで、一定の品質の抗体を産生できることとなる。

[0037] 再生医療

幹細胞の増殖効率および分化誘導効率、分化状態の電位情報を用いることで、一定の品質を担保できることとなる。

[0038] 藻類

藻類の培養においても、電位情報を用いることで、一定の品質を担保でき

ることとなる。

[0039] 水耕栽培

水耕栽培における根圏と直接する養液の酸化還元状態と野菜の生育との関係

[0040] 水田

稲の栽培においても、電位情報を用いることで、一定の品質を担保できることとなる。

[0041] 循環水系配管腐食

循環水系配管についても、電位情報を用いることで、状況を把握できることとなる。

[0042] 養殖

養殖場水質悪化具合、魚の生育具合、病気発生具合なども、電位情報を用いることで、管理や最適化できることとなる。

[0043] 港湾・水路・湖沼の汚染・浄化

港湾・水路・湖沼の汚染・浄化についても、電位情報を用いることで、状況を把握できることとなる。

[0044] アクアリウム

アクアリウムについても、電位情報を用いることで、状況を把握できることとなる。

[0045] ウェアラブル端末

ウェアラブル端末に用いることで、体表面の酸化還元状態(汗など)に関するデータを得ることで、装着者の健康状態や心理状況を把握できることとなる。

[0046] 口内センサ

口内の酸化還元電位と虫歯、歯周病、口臭、口内炎、健康状態との関係などを解析できる。

[0047] 尿センサ

このシステムを用いて尿を解析することで、がんの早期発見など、対象者の

健康状態を把握できることとなる。この場合も、例えば、ある種のがん患者の尿をセンシングした際の、複数の電位情報を記憶し、機械学習してパターンニングを行い、結果を記憶する。そして、センシングした対象者の尿の電位情報を解析すれば、対象者が、ある種の癌を罹患している可能性を分析できることとなる。

[0048] 堆肥づくり

堆肥についても、電位情報を用いることで、状況を把握できることとなる。

実施例

[0049] 本発明のシステムを微生物による乳酸生産に適応した実施例を示す。

図3は、実施例の培養および測定系の概要図である。図3に示されるように、この培養制御装置41は、ジャーファーマンター42、攪拌翼43、空気吹き込み装置44、排気ガス計測装置45、サンプリング46、ヒーターバンド47、NaOH添加制御ポンプ48、温度計49、pH計50、溶存酸素計51、白金電極52、金電極53、ガラス状炭素電極54、参照電極55、電圧ロガー56、及びコンピュータ57を有する。

[0050] 使用した菌株は、グルコースを基質として乳酸を生産する。グルコースと酵母エキスからなる培地をジャーファーマンターに入れ、前培養した菌を加え、スパージャーから空気の通気を行いながら培養を行った。

[0051] 使用した酸化還元電位センサは、白金、金、ガラス状カーボンを作用電極とし、1本の銀塩化銀電極を共通の参照電極とするように市販の電圧ロガーに接続した。

その他の測定項目は温度、pH、溶存酸素濃度、排気酸素濃度、排気CO₂濃度である。温度計、pH計、溶存酸素計はジャーファーマンターに設置した。pHは培養制御装置によって監視され、設定したpHを下回るとポンプを制御してNaOH溶液を滴下してpHを一定に保った。また、排気酸素濃度と排気CO₂濃度も培養制御装置によって計測される。これらのデータは最終的にコンピュータに記録した。

[0052] この培養システムを用いて初期グルコース濃度を120 g/Lとし、温度を摂氏34

.5度～37.0度、pHを7.34～8.13の範囲の条件で計40回の実験を行った。植菌後20, 220, 420, 620, 820, 1020, 1220, 1420分後の培養液を採取し、OD660, グルコース濃度, 乳酸濃度を定量した。このデータからスプライン補間を行い、培養期間を通してのOD660, グルコース濃度, 乳酸濃度を求めた。

[0053] 図4は、実施例で行なった培養のうち代表的な培養結果と時系列データを示す図面に代わるグラフである。

[0054] これらのデータを元に、植菌60, 120, 180, 240, 300, 360, 420, 480, 540分後の時間毎に、温度, pH, 溶存酸素濃度, 排気酸素濃度, 排気CO₂濃度, OD660および酸化還元電位のデータを入力とし、乳酸生産効率（グルコース濃度が20 g/Lまで低下した時の乳酸濃度）を出力とする学習モデルを、ランダムフォレストを用いて構築した。酸化還元電位のデータとして白金電極のみを用いた場合、生産効率の決定係数は上記の植菌経過時間順に0.987, 0.979, 0.991, 0.986, 0.984, 0.989, 0.985, 0.988, 0.977（平均0.985）となった。なお、酸化還元電位のデータを加えない場合の決定係数はそれぞれ0.982, 0.912, 0.986, 0.985, 0.978, 0.99, 0.963, 0.979, 0.964（平均0.971）であった。

[0055] 次に、酸化還元電位のデータとして金電極とガラス状カーボン電極を加えて学習モデルを構築した結果、生産効率の決定係数は順に0.987, 0.986, 0.994, 0.990, 0.991, 0.991, 0.992, 0.992, 0.989（平均0.990）に有意に向上した(P値=0.0009: Paired t-test)。

[0056] 図5は、実施例で行なった乳酸生産効率に対する決定係数の比較を示す図面に代わるグラフである。このことから、本発明により提供された複数種の電極の酸化還元電位データは従来の一種類の電極の酸化還元電位データと比較して、培養系の動態を推測する指標としてより有用である事が示された。

産業上の利用可能性

[0057] この発明は、測定対象系の動態推測用システムに関するもので、実験機器産業、医薬産業、バイオテクノロジーといった様々な技術分野で利用され得る。

符号の説明

- [0058] 1 動態推測用システム
3 参照電極
5 第1の作用電極
7 第2の作用電極
9 第3の作用電極
11 情報記憶部
13 最適化条件推測部