

パン酵母生産における新規形状攪拌翼 (スーパーミックス, HS100+HR100) 及び消泡装置の性能評価

玉井正弘

Performance evaluation of a new shape stir impeller (Super-Mix, HS100 + HR100)
and defoaming device on baker's yeast production

Masahiro Tamai

To evaluate the performance and energy conservation of the new shape stir impeller and the effect of a defoaming device, baker's yeast were grown in a jar-fermentor (total volume: 10 L). Culture broth over flow was not generated with a 4-L initial volume. When a defoaming device was used, over flow was generated in a 6-L volume. However, over flow was generated by 5 and 6 L when no defoaming device was used. The average over flow in 2 experiments with a 6-L initial volume was 1.22 L with the Super-Mix impeller and 1.74 L with the turbine impeller. The multiplication power consumption of the Super-Mix impeller was approximately 11% lower than the turbine impeller.

キーワード：通気攪拌型培養槽，攪拌翼，消泡装置，パン酵母，対数増殖，指数流加

通気攪拌型培養槽¹⁾は、前報²⁾でも述べたように発酵工業などで広く利用されていて、培養液中に供給された空気は、攪拌翼を高速で回転させることにより気泡径を小さくし、邪魔板で気泡の滞留時間を長くすることにより培養液中に酸素が溶けやすくなるようにしている。

一方、通気攪拌は酸素の供給を促進する半面、培養液は培養時間の経過に伴い生産物濃度、たんぱく質などの副産物の蓄積を生じ、次第に培養液の上面に泡を発生する。顕著な場合は培養液の槽外への流出という現象を発生し、過剰な発泡による培養液の槽外への流出は、仕込み液量の減少や生産物のロスを招くとともに、最悪の場合は雑菌汚染を引き起こす。発泡の抑制するために主に消泡剤³⁾あるいは機械的消泡⁴⁾⁶⁾が用いられている。消泡剤の添加は酸素移動速度の低下、微生物の活性低下などに加え、さらに、培養後の生産物の分離・精製におけるコストの増の問題がある。機械的消泡は、攪拌翼を装着した回転軸の液上面に設置したタービン型の消泡翼を回転させて行っている。発泡が激しい場合は、タービン型の消泡翼では対応が不可能となるため、各種の機械的消泡装置が研究・提案されている。

そこで、本研究では株式会社三ツワフロンテックが新たに開発した消泡装置⁷⁾を培養槽の上部に設置し、グルコースの指数流加培養法によるパン酵母生産において消泡装置の消泡効果を評価すると共に、攪拌翼をスーパーミックス

とタービン翼とした場合での省エネルギー効果の評価した結果を報告する。

実験方法

1. 供試酵母

市販のサフインスタント顆粒ドライイーストを用いた。

2. 培地組成

(1) 基本培地

酵母エキス 5g, 尿素 2g, 硫酸アンモニウム 5g, リン酸 2 水素カリウム 2g, リン酸水素 2 カリウム 1g, 硫酸マグネシウム・7 水和物 1g, グルコース 1g, 硫酸亜鉛・7 水和物 0.005g, 塩化カルシウム 0.25g 及び硫酸鉄(II)・7 水和物 0.25g を水道水 1 L に溶解した。

(2) 流加用グルコース培地

121°Cで 20min 滅菌した酵母エキス 5g L⁻¹を含む 50% (w/w)グルコース液を用いた。

3. 培養方法

(1) 培養装置

Fig. 1 に示した装置を用い、基本培地 5L を 10 L 容培養槽 (三ツワフロンテック製) に入れ、121°Cで 30min 滅菌した。

培養は、初発乾燥酵母濃度が 10.8g L⁻¹となるようにドライイーストを添加した。30°C, 通気量 1 vvm で行った。

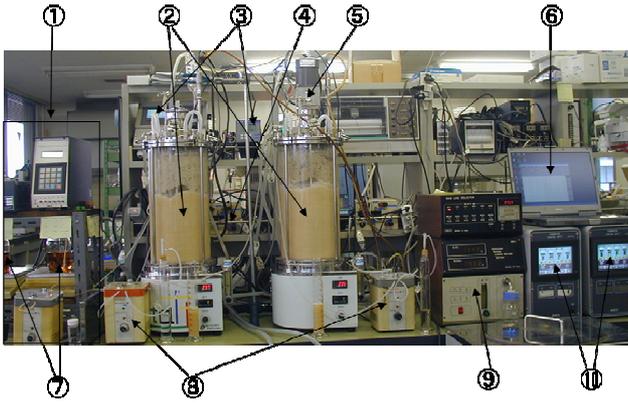


Fig. 1 Experimental set-up

- ① feed controller ② jar-fermentor ③ DO meter ④ defoaming device ⑤ pH meter ⑥ computer ⑦ 50(w/w)% glucose solution ⑧ peristaltic pump ⑨ gas analyzer ⑩ controller

pHは、pHコントローラーを用いて14%(w/v) NH_4OH を滴下することにより5.5に制御した。溶存酸素濃度(DO)は、培養槽に装着したDOセンサーから培養制御装置(三ツワフロンテック製)に数値を取り込み、回転数を200~900rpmの範囲で制御することにより3ppmに保持した。

(2) グルコース流加

酵母菌体を対数的に増殖させるために必要な流加グルコース量 $g\text{-glucose L}^{-1}$ は、初発培養液量を4, 5及び6Lとして前報と同様に求めた。定流量送液システム(エイブル製)に予め入力しておいた送液速度(2分間以内に計算量のグルコースの1/30)で流加するように設定した。1時間毎にグルコース溶液の供給量を指数的に増加させて流加した。流加速度の計算に当たっては、グルコース溶液と14%(w/v) NH_4OH 溶液の流加による培養液量の増加とサンプリング(約22mL, 実際の値はメスシリンダーにより実測)による培養液量の減少を考慮した。

(3) 攪拌翼

高 K_{La} 攪拌翼としてスーパーミックス(SM, HS-100+HR100, 三ツワフロンテック製)を用いた。対照として従来より発酵槽の攪拌翼として使用されてきたタービン翼(TB)を用いた。

(4) 消泡装置

消泡は、Fig. 2に示した装置を用いて行った。

培養装置の上蓋に消泡羽根を装着し、カップリングを介して消泡羽根駆動用モーターと接続した。モーターの回転数はコントローラーにより発泡の状況を見ながら手動で調節した。回転数の測定は行っていないが、上限目盛りを8(最大目盛りは10)とした。消泡装置を含む培養装置の滅菌は、モーターを外して行い、培養開始前にモーターを装着した。

(5) 培養データ収集

前報と同様に回転数、消費電力、DOは、培養制御装置からデータ変換装置(三ツワフロンテック製)を通じてコ

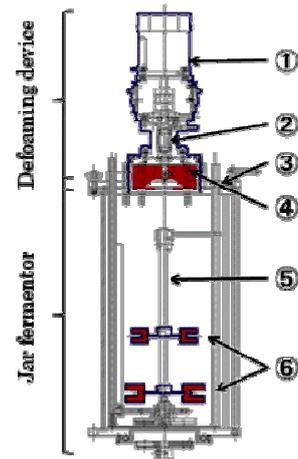


Fig. 2 Schematic diagram of defoaming device

- ① motor for driving of stir impeller ② coupling ③ above lid ④ defoaming impeller ⑤ stir axis ⑥ stir impeller

ンピュータに1回/秒の間隔でデータを収集した。

4. 分析方法

採取した培養液の10mLを遠心管に移し、10000rpmで10分間遠心分離した。沈殿物を生理食塩水で2回洗浄を行った後に、105°Cで1夜乾燥後重量を測定して乾燥酵母菌体とした。培養終了後の培養液量は、培養装置からメスシリンダーに移して容量を測定した。

実験結果および考察

1. グルコース流加速度と積算量

初発培養液量を4, 5及び6Lにおけるグルコースの流加速度とグルコースの流加の積算量をFig. 3に示した。

いずれの初発培養液量でも、50%(w/w)グルコース溶液の供給速度は、段階的に増加し、グルコースの流加の積算量も次第に増加した。また、初発培養液量の増加により、その値は増加した。

2. 経時変化の予測

サンプリング量、14(w/v)アンモニア溶液の添加量、全培養液量、菌体濃度および全菌体量を計算した結果をFig. 4に示した。

サンプリング量は、いずれの初発培養液量でも22mL/回としているため直線的に増加する。アンモニア溶液の流加量は、初発培養液量の増加に伴い増加する。サンプリングは培養液の減少を招き、アンモニア溶液の添加は培養液の増加を招く。このため、培養液量は減少するが、その減少の程度は、最大で0.1L(初発培養液量:4L, 6時間)程度と全培養液量と比較して影響は少ないことが認められた。

全培養液量は、時間の経過と共に次第に増加し、増加量は初発培養液量の増加に対応して増加するが、増加率は同じである。菌体濃度は、いずれの初発培養液量でも指数的に増加する。全菌体量は、初発培養液量の増加により増加

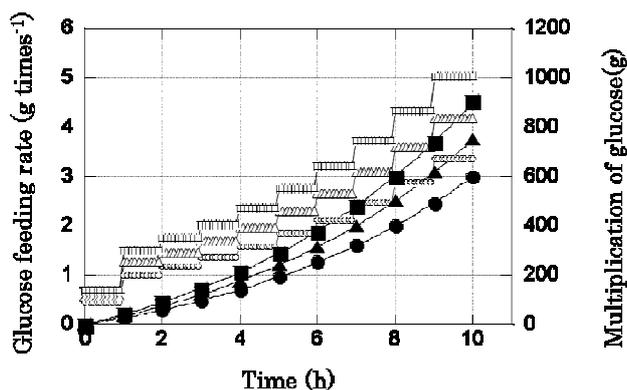


Fig. 3 Estimation of glucose feeding rate and amount of feeding multiplication of glucose on each initial culture broth

Symbols : ●, ○, 4L ; ▲, △, 5L ; ■, □, 6L.

Open and closed symbols indicate glucose feeding rate and multiplication of glucose.

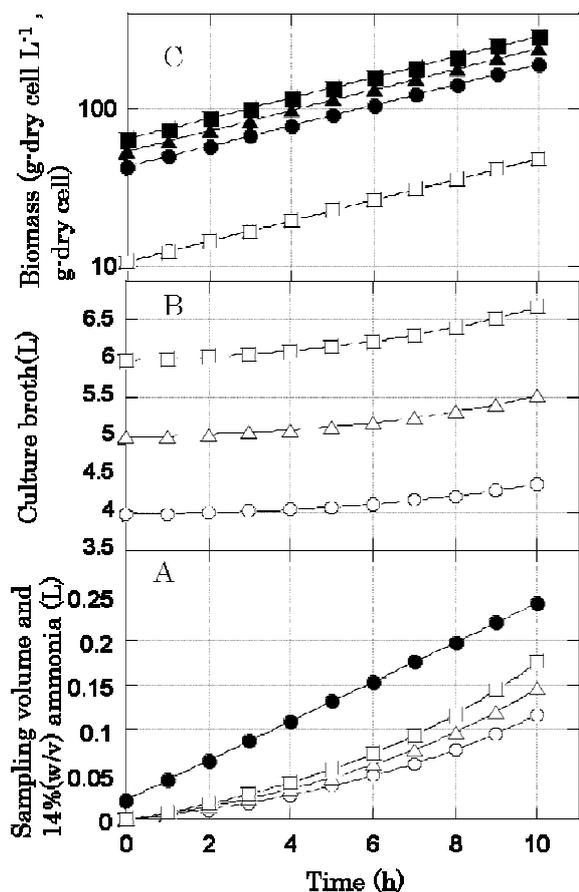


Fig. 4 Estimation of time course on each initial culture broth

Symbols : ●, ○, 4L ; ▲, △, 5L ; ■, □, 6L ; (A) ●, ▲, ■, Sampling volume ; ○, △, □, 14%(w/v) ammonia ; (B) ○, △, □, culture broth ; (C) ●, ▲, ■, total biomass ; ○, △, □, biomass concentration.

するが、その増加量は指数的であった。

3. 各種条件下での培養

(1) 初発培養液量 4 L, 攪拌翼スーパーミックス, 消泡装置不動作下における培養

初発培養液量を 4 L として, 攪拌翼をスーパーミックス, 消泡装置を動作させない条件で培養を行った. 培養の経時変化を Fig. 5 に示した.

DO は, ほぼ 3ppm を維持できた. 積算消費電力は, ほぼ直線的に増加し, スーパーミックスの 10 時間目で 773 Wh であった. 菌体濃度及び全菌体量は, いずれも対数的に増加した. 菌体濃度及び全菌体量は, 44.4g-dry cell L⁻¹ 及び 193.8g-dry cell であった. さらに, 菌体濃度及び全菌体量に基づく μ は, 0.131 及び 0.136h⁻¹ であった. 初発培養液量 4L では培養槽からの培養液の流出は認められなかった.

(2) 初発培養液量 5 L, 攪拌翼スーパーミックス, 消泡装置不動作下における培養

初発培養液量を 5 L として, 攪拌翼をスーパーミックスとタービン翼, 消泡装置を装着しない条件で培養を行った. 培養の経時変化を Fig. 6 に示した.

DO は, スーパーミックス及びタービン翼共にほぼ 3ppm を維持できた. 積算消費電力は, 次第に増加しスーパーミックス及びタービン翼の 10 時間目で 862 及び 978Wh であった. また, スーパーミックスがタービン翼よりも常に低い値となった. 培養開始後 8 時間以降, 培養液が培養槽外へ流出した. 流出量は, スーパーミックスで 0.53L, タービン翼で 0.86L であった. このため, 培養液

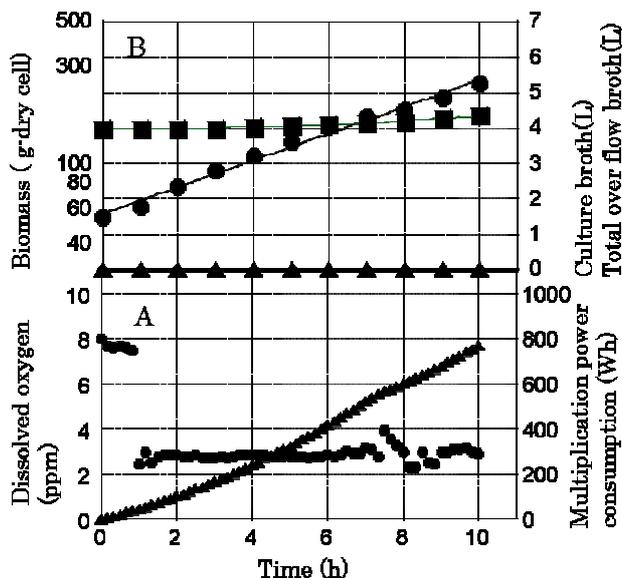


Fig. 5 Time course on 4L of initial culture broth

Culture condition: stir impeller, Super-Mix; defoaming device, nothing

Symbols : (A) ●, dissolved oxygen ; ▲, multiplication power consumption ; (B) ●, biomass ; ▲, total over flow ; ■, culture broth volume.

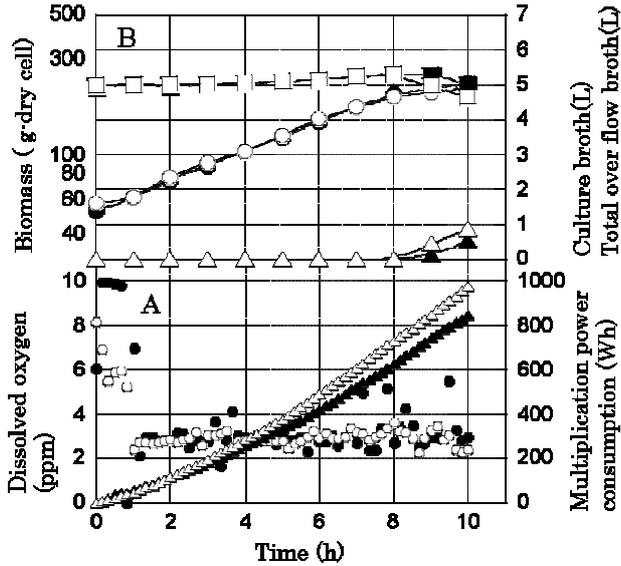


Fig. 6 Time course on 5L of initial culture broth

Culture condition: stir impeller, Super-Mix and Turbine; defoaming device, nothing.
 Symbols : (A) ●, ○, dissolved oxygen ; ▲, △, multiplication power consumption ; (B) ●, ○, biomass ; ▲, △, total over flow ; ■, □, culture broth.
 Open and closed symbols indicate Turbine and Super-Mix.

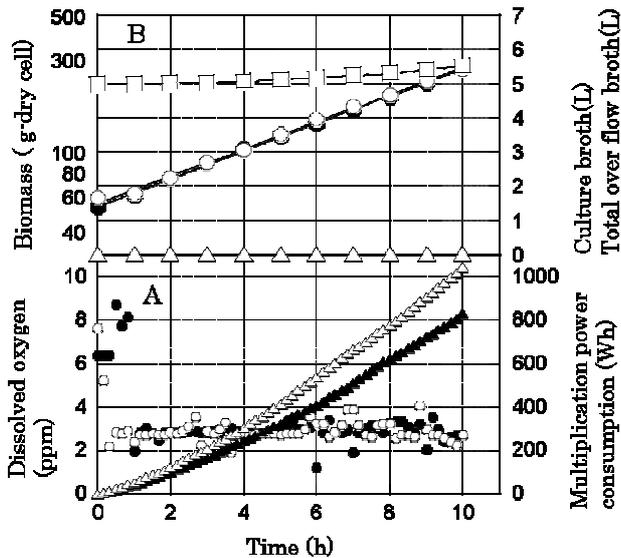


Fig. 7 Time course on 5L of initial culture broth

Culture condition: stir impeller, Super-Mix and Turbine; defoaming device, possession.
 Symbols are the same as Fig. 6.

量が減少し、全菌体量は、8 時間までスーパーミックス及びタービン翼共に指数的に増加したが、これ以降増加速度が低下した。全菌体量は、スーパーミックスで 250.2g-dry cell、タービン翼で 257.6g-dry cell であった。さらに全菌体量に基づく μ は、スーパーミックスで 0.165 h^{-1} 、タービン翼で 0.157 h^{-1} であった。

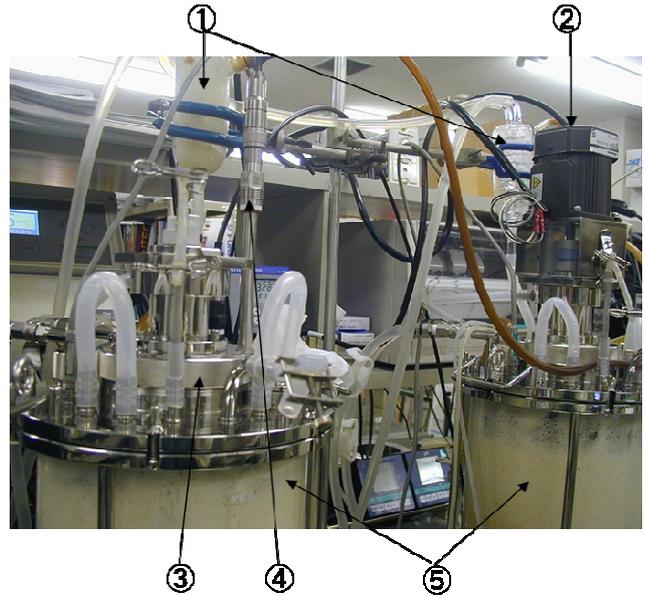


Fig. 8 Appearance of foam occurring

Left: defoaming device, nothing ; right: defoaming device, possession
 ① Condenser ② defoaming device ③ lid ④ DO meter
 ⑤ jar fermentor

(3) 初発培養液量 5 L, 攪拌翼スーパーミックスとタービン翼, 消泡装置作動下における培養

初発培養液量を 5L として、攪拌翼をスーパーミックスとタービン翼, 消泡装置を作動した条件で培養を行った。培養の経時変化を Fig. 7 に示した。

DO は、スーパーミックス及びタービン翼共にほぼ 3ppm を維持できた。積算消費電力は、次第に増加しスーパーミックス及びタービン翼の 10 時間目で 827 及び 1039Wh であった。また、スーパーミックスがタービン翼よりも常に低い値となった。培養期間中、培養槽外への培養液の流出は発生しなかった。このため、培養液の減少は無く、全菌体量は、培養期間中スーパーミックス及びタービン翼共に指数的に増加した。全菌体量は、スーパーミックスで 266.2g-dry cell、タービン翼で 251.8g-dry cell であった。さらに、全菌体量に基づく μ は、スーパーミックスで 0.157 h^{-1} 、タービン翼で 0.154 h^{-1} であった。

(4) 消泡装置作動の有無による消泡の状況

消泡装置の有無での発泡の状況を Fig. 8 に示した。

左の消泡装置を装着しない場合は、培養槽の上部に設置した排気コンデンサーに泡が充満し、さらに排気コンデンサーに接続した排気チューブから培養槽外に培養液が流出している。一方、右の消泡装置を装着した場合は、排気コンデンサーに泡は無く、培養液の流出も観察されなかった。消泡装置に装着してある羽根により発生した泡が潰されていると考えられる。

(5) 初発培養液量 6 L, 攪拌翼スーパーミックスとタービン翼, 消泡装置不作動下における培養

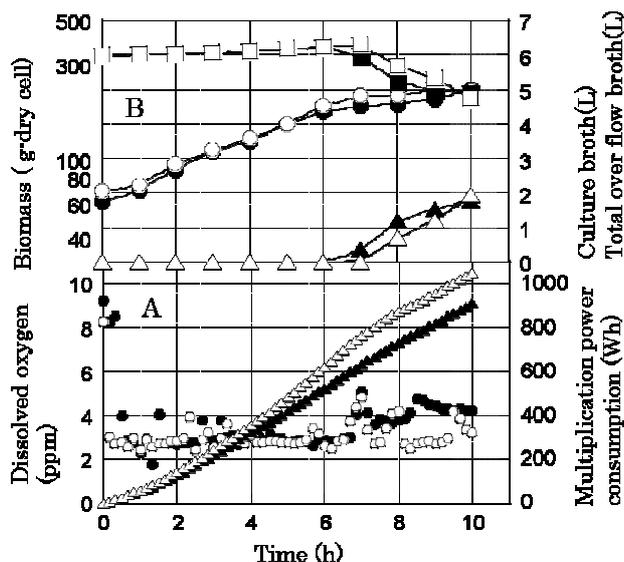


Fig. 9 Time course on 6L of initial culture broth

Culture condition: stir impeller, Super-Mix and Turbine; defoaming device, nothing.
Symbols are the same as Fig. 6.

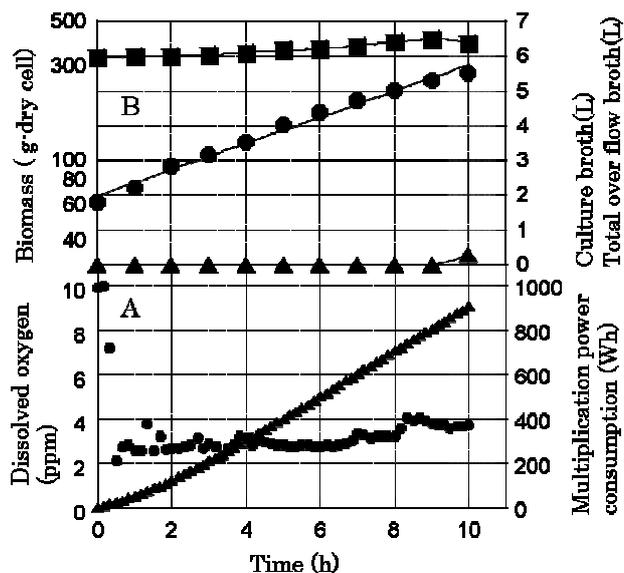


Fig. 10 Time course on 6L of initial culture broth

Culture condition: stir impeller, Super-Mix; defoaming device, possession.
Symbols : (A) ●, dissolved oxygen ; ▲, multiplication power consumption ; (B) ●, biomass ; ▲, total over flow ; ■, culture broth.

Table 1 Total over flow broth, remaining broth and total broth at cultivation end (defoaming device:nothing)

Initial Broth(L)	Inperar	Total Over Flow Broth(L)		Final Broth(L)		Total(L)	
4	SM			4.48		4.48	
	TB						
5	SM	0.92	0.53	4.75	5.13	5.67	5.66
	TB	0.86		4.83		5.69	
6	SM	1.78	0.66	4.90	6.12	6.68	6.78
	TB	1.95	1.53	4.85	5.03	6.80	6.56

Table 2 Total over flow broth, remaining broth and total broth at cultivation end (defoaming device:possession)

Initial Broth(L)	Inperar	Total Over Flow Broth(L)		Final Broth(L)		Total(L)	
4	SM						
	TB						
5	SM	0	0	5.55	5.56	5.55	5.56
	TB	0	0	5.56	5.54	5.56	5.54
6	SM	0.27	0	6.42	6.77	6.69	6.77
	TB						

初発培養液量を 6L として、攪拌翼をスーパーミックスとタービン翼、消泡装置を作動しない条件で培養を行った。培養の経時変化を Fig. 9 に示した。

DO は、スーパーミックス及びタービン翼共に培養液の流出が始まった 7 時間くらいまではほぼ 3ppm を維持できたが、これ以降回転数が低下したにも関わらず DO は 4ppm くらいに上昇した。積算消費電力は、次第に増加したが、培養液の流出が始まった 7 時間目以降は、回転数の低下に伴い上昇のペースが低下した。スーパーミックス及びター

ビン翼の 10 時間目で 910 及び 1049Wh であった。培養開始後 7 時間以降、培養液が培養槽外へ流出した。流出量は、スーパーミックスで 1.78L、タービン翼で 1.95L であった。このため、培養液量が減少し、全菌体量は、7 時間までスーパーミックス及びタービン翼共に指数的に増加したが、これ以降増加速度が低下した。全菌体量は、スーパーミックスで 304.6g-dry cell、タービン翼で 311.4g-dry cell であった。さらに、全菌体量に基づく μ は、スーパーミックスで 0.175 h^{-1} 、タービン翼で 0.175 h^{-1} であった。

(6) 初発培養液量 6 L, 攪拌翼スーパーミックス, 消泡装置作動下における培養

初発培養液量を 6 L として, 攪拌翼をスーパーミックス, 消泡装置を作動した条件で培養を行った. タービン翼での培養は実施していない. 培養の経時変化を Fig. 10 に示した.

DO は, 培養後半で少し上昇する傾向であったがほぼ 3ppm を維持できた. 積算消費電力は, 次第に増加し 10 時間目で 911 Wh であった. 9 時間以降, 培養槽外に 0.27L の培養液の流出が流出した. このため, 培養液の減少は少なく, 全菌体量は, 培養期間中指数的に増加した. 全菌体量は 283.6g-dry cell, であった. さらに, 全菌体量に基づく μ は 0.158h^{-1} であった.

4. 培養液の流出量

各初発培養液量での消泡装置の装着の有無による培養液の流出についてまとめた. 消泡装置を作動しない場合を Table 1 に, 作動した場合の結果を Table 2 に示した.

初発培養液量 4L では培養液の流出は発生しなかった. 5L ではスーパーミックス, タービン翼共に培養液の流出が発生した. 流出量は, 0.73L (平均値) と 0.86L でほぼ同程度であった. 6L でもスーパーミックス, タービン翼共に培養液の流出が発生した. 流出量は, 1.22L と 1.74L (共に平均値) とスーパーミックス翼が低い流出量であった. 5L の場合と比較してスーパーミックスが流出量の増加の程度は低かった.

消泡装置を装着した場合, 初発培養液量 5L ではスーパーミックス, タービン翼共に培養液の流出は発生しなかった. 6L ではスーパーミックスで培養液の流出が 2 回の内 1 回発生したが, 流出量は 0.27L の少量であった. 消泡装置を装着することにより, 培養槽外への培養液の流出を抑制できることが確認できた.

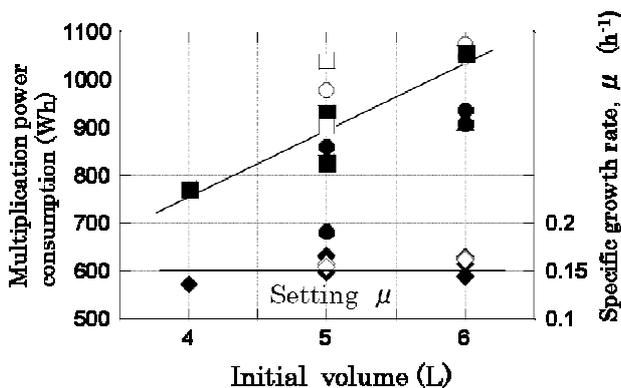


Fig. 11 Influence of initial culture broth on μ , multiplication power consumption

Symbols : ●, ○, defoaming device, nothing ; △, ▲, defoaming device, possession ; ■, □, no over flow ; ◆, ◇, μ .

Open and closed symbols indicate Turbine and Super-Mix.

5. 比増殖速度及び積算消費電力

これまでの結果をもとに各初発培養液量での培養終了時での積算消費電力と比増殖速度を求めた. 結果を Fig. 11 に示した.

培養液の流出が無かった初発培養液量 4L (スーパーミックス), 5L (スーパーミックスとタービン翼) 及び 6L (スーパーミックス) で比較するとスーパーミックスは, タービン翼よりも積算消費電力は低い傾向であり, 培養液量の増加により積算消費電力はほぼ直線的に増加した. また, これ以外は培養液の流出による培養液の減少のために積算消費電力は低くなるが, スーパーミックスがタービン翼に比較して低くなる傾向であった.

μ は, ほぼ設定値の 0.15h^{-1} を維持できた.

6. 溶存酸素濃度の影響

前報の初発培養液量 2.5L の結果に今回の培養のうちの消泡装置を作動させることにより培養液の流出が無かった 5L の結果を加えた. 結果を Fig. 12 に示した.

μ は, 初発培養液 2.5, 5L ともにほぼ設定値の 0.15h^{-1} を維持できていた. 5L での菌体量は, 2.5L のほぼ 2 倍であった. 積算消費電力は, 初発培養液量を 2.5L から 5L と 2 倍にすることによりスーパーミックス, タービン翼ともに 230Wh 程度増加した.

スーパーミックスの省エネルギー効果を明らかにするために, 前報と同様にスーパーミックスとタービン翼の最終積算消費電力の比率を計算した. 積算消費電力は, 11% 程度低減した. これは 2.5L の場合と同様であり, 5L でもスーパーミックスは, タービン翼に比較して消費電力を削減できることが認められた.

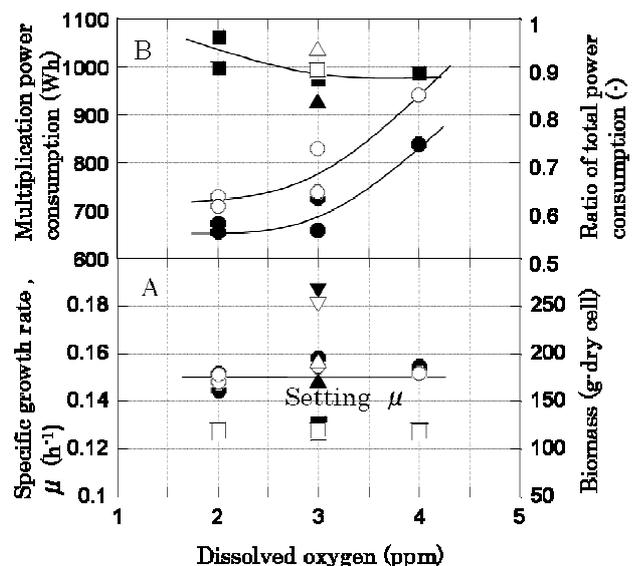


Fig. 12 Influence of dissolved oxygen concentration

Symbols : (A) ●, ○, μ in 2.5L ; ▲, △, μ in 5L ; ■, □, biomass in 2.5L ; ▼, ▽, biomass 5L ; (B) ●, ○, multiplication power consumption in 2.5L ; ▲, △, ratio of total power consumption in 2.5L ; ■, □, ratio of total power consumption.

Open and closed symbols indicate Turbine and Super-Mix.

要 約

株式会社三ツワフロンテックが新たに開発した消泡装置の効果をグルコースの指数流加培養法によるパン酵母生産において評価すると共に攪拌翼をスーパーミックスとタービン翼とした場合での評価を行い、以下の結果を得た。

- 1) 初発培養液量 4L では培養液の流出はなかった。
- 2) 消泡装置をさせない場合では初発培養液量 5 及び 6L では培養液が流出し、初発培養液量の増加により流出量は増加した。6L での流出量は、2 回の平均でスーパーミックスで 1.22L とタービン翼で 1.74L とスーパーミックスが低い流出量であった。
- 3) 消泡装置を作動させた場合では初発培養液量 5L では培養液が流出しなかった。6L では若干の流出があった。
- 4) μ は、ほぼ設定値の 0.15h^{-1} を達成できた。
- 5) 積算消費電力は、2.5L の場合と同様にスーパーミックスがタービン翼よりも 11% 程度減少した。

文 献

- 1) 小林 猛, 本多裕之, 「応用生物科学シリーズ 8 生物化学工学」, 第 1 版, (東京科学同人, 東京), pp.106-108 (2002).
- 2) 前報 (パン酵母生産における新規形状攪拌翼 (スーパーミックス, HS100+HR100) の性能評価)
- 3) 小野寺正幸, 西堀仁司, 門田 智, 田島 淳, 大川 輝, 微生物の好気培養に及ぼす消泡剤の影響について, 新潟工科大学紀要, **1**, 35-40 (1996).
- 4) 竹園 恵, 日下部征信, 大金一二, 佐藤栄一, 小野寺正幸, 新規機械的泡制御下における通気攪拌操作, 新潟工科大学紀要, **9**, 29-32 (2004).
- 5) Takesono, S., Onodera, M., Yosida, M. Yamagiwa, K. and Ohkawa, A., Performance characteristic of mechanical foam-breakers fitted to a stirred-tank reactor. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **78**, 48-55 (2003).
- 6) 中村未茂, 安部定宏, 岩田久雄, 伊藤靖史, 超音波消泡システムの開発, 三菱重工技報, **33**, 374-377 (1996).
- 7) 喜久川政直, 野村重雄, 消泡装置, 培養システム及び消泡装置付き容器, 特開 2010-46644 (2010.3.4).