



## 多孔質セラミックスを用いたファインバブル発生器による 培養プロセスの促進

深川友貴, 熊谷和晃

株式会社ノリタケカンパニーリミテド

### 1. はじめに

ファインバブル (FB) とは, サイズに応じて分類されたマイクロサイズ (100  $\mu\text{m}$  以下) の気泡「マイクロバブル」と, ナノサイズ (1  $\mu\text{m}$  以下) の気泡「ウルトラファインバブル」の総称である. 通常の数 mm サイズの気泡は, 発生すると速やかに浮上し液面で弾けて消えてしまう一方, ファインバブルは数 mm サイズの気泡と異なる性質をもつ.

ファインバブルの主な特性には, 数 mm サイズの気泡と比べ気液接触面積と液中滞留時間が著しく大きいことや, 表面にマイナス電荷を帯びていることが挙げられる. 前者より気体中のガスを高効率に液体へ溶かすことができ, 飽和度を超えて溶解可能とする“気体溶解効果”, 後者より液中に含まれる物質・微粒子に対して凝集作用を発揮し, フロック形成に寄与, 固液浮上分離などに活用できる“物理的吸着効果”が期待される. その他にも様々な特性をもつファインバブルは, 廃液処理, 農業, 化学, 洗浄など様々な分野で応用・検討が行われている.[1]

食品業界では, 発酵や醸造技術を用いて味噌・チーズ・醤油を始めとした多くの食品や酒類が生産されているが, その過程では菌体や酵母などが利用されている. 菌体や酵母の培養プロセスの中には液中への「通気」が必要なものがあり, 通気により溶解した酸素を用いて培養プロセスは進行する. 我々は通気工程にファインバブル技術を適用することで, 効率よく酸素が溶解され, 培養プロセスの効率化に繋がるのではないかと考えた.

本稿では, ノリタケのファインバブル発生技術と, 培養プロセスへの適用結果の報告を行う.

### 2. ノリタケのファインバブル発生技術

ファインバブルの発生方式は, 主に4つ挙げられる.[2] ①旋回流方式: 気体と液体を高速回転させ, せん断力で微小なバブルを生成. ②加圧溶解方式: 液中に気体を加圧溶解させ, 一気に減圧させることでバブルを発生. ③超音波方式: 衝撃波, キャビテーションによりバブルを発生. ④微細孔方式: 液中の多孔体へ気体に圧力をかけて通し, バブルを発生.

ノリタケは, セラミックスのリーディングカンパニーとして多くのセラミックス関連技術を有しており, その中の1つに「多孔質セラミックス」がある. 我々はその技術を活用した微細孔方式のファインバブル発生器【セラポール】を新たに開発した.

セラポールに使用される多孔質セラミックスは管状に成型され, 膜面の細孔径サイズが均一に制御されている. 膜面に一定の圧力をかける事で液中へ気体を吹き出し, ファインバブルを発生させることができる (Fig. 1). また, 材料には純度の高いアルミナを使用しており, 強度・耐薬品性・耐熱性に優れる. すなわち本製品は, 以下の特徴をもつ. (1) 気体を供給するだけで容易にファインバブル発生. (2) 膜面積を増やすことでバブル発生量が増加. (3) せん断力が掛からないため, 液温上昇や液の変質を起こしづらい. (4) オートクレーブや薬品洗浄が可能.

これらは, とくに培養プロセスでの使用に適した特徴といえる.

### 3. ファインバブルを用いた培養プロセス

微生物の好気培養プロセスでは, 低エネルギーで効率的な酸素供給手法が求められている. 培養槽で通気を行う場合, 一般的な手法として, 攪拌機下に設置された焼結金属などの散気管から泡を発生させ, 攪拌羽根によって発生させた気泡をせん断し, 微細気泡とするものがある. これにより, 培養液単位体積当たりの気液界面積を増大させ, 酸素供給量を向上させること

〒451-8501 愛知県名古屋市区則武新町三丁目1番36号  
† Fax: 052-561-7149

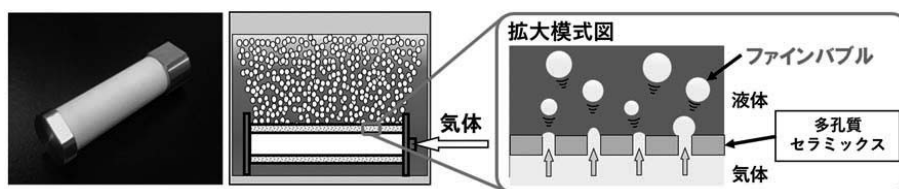


Fig.1 セラポール及びファインバブル発生の様子の模式図

ができる。しかし、攪拌によるせん断力により、ダメージに弱い放線菌や糸状菌の培養には注意が必要であること、攪拌動力が大きいため比較的ランニングコストが高いことなどがデメリットとして挙げられる。

ファインバブル発生器【セラポール】の利用により、以下のメリットが期待される。

#### 1) 酸素溶解効率の向上

セラポールより生成されるファインバブルは、一般的な散気管から生成される気泡と比較し非常に微細であり (Fig. 2), 気体と液体の接触面積増大により、酸素溶解効率が飛躍的に向上する。

#### 2) 攪拌機によるシェアストレスの低減

酸素溶解効率の向上により、攪拌機の回転数を下げても同等の酸素溶解効果が期待される。それに伴い、攪拌機によるシェアストレスも低減される。さらに他のファインバブル発生方式と比べ、溶媒にせん断力をかけない。そのため、物理的エネルギーに弱い菌体や酵母の培養にも有効である。

他のファインバブル発生方式ではこれら全てに適応はできず、またセラポールはセラミックであるため丈夫で破損しにくく、交換や洗浄などの作業が容易である。すなわちセラポールは培養プロセスに非常に適していると言える。以下、セラポールを用いて実際にその検証を行った。

### 4. 検証

#### 4.1 ファインバブルの酸素溶解効率

好気性微生物培養では、培養液への酸素供給能が培養効率の律速になることが多い。そこで、セラポール

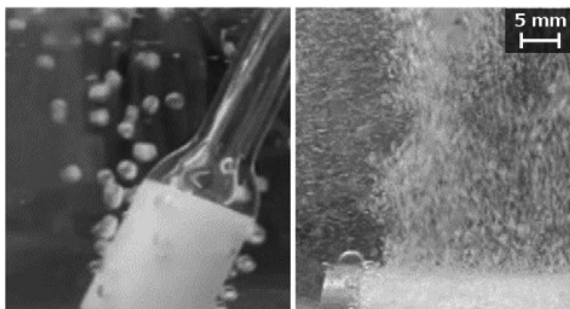


Fig.2 発生する気泡の様子 (左: 標準散気管, 右: セラポール)

を用いてファインバブルの総括酸素移動容量係数  $k_{La}$  を検証した。

$k_{La}$  は酸素移動の容易度を示す係数であり、酸素濃度の時間変化は  $k_{La}$  に比例することから散気管の酸素供給能の指標となる。 $k_L$  (液境膜物質移動係数: m/s) と  $a$  (単位容積あたりの気液接触面積: 1/m) を組み合わせた係数で、物質の溶解速度は  $k_{La}$  に比例する。同条件下では  $k_L$  の値は変わらないが、 $a=S/V$  ( $S$ : 気液接触面積  $m^2$ ,  $V$ : 液容積  $m^3$ ) と表す事ができ、通気量は同じでも微細気泡の接触面積が大きければ  $k_{La}$  値は向上する。

2L ビーカーへ蒸留水を 1L 入れ、溶存酸素量測定前に窒素バブリングにより溶存酸素を蒸留水から取り除いた。セラポール (NBS-M5, Noritake) と標準散気管それぞれにコンプレッサーから圧縮空気を 10, 30, 50 mL/min で 5 min 供給し、残留酸素濃度計 (ARC Mirror, Hamilton) を用いて溶存酸素量を測定し、 $k_{La}$  値を算出した (Fig. 3)。標準散気管と比べ、 $k_{La}$  値は最大 8.1 倍を示した。この結果より、通気工程へのセラポールの適用可能性が示された。

#### 4.2 ファインバブルの培養プロセスへの適用

ファインバブルによる培養効果の検証として、実際の培養工程を想定した試験をセラポールと標準散気管により行った。絶対好気性酵母である *Pseudozyma hubeiensis* は、培養によりバイオサーファクタント (=BS; 糖や油脂を原料とした培養により発酵生産される界面活性剤) であるマンノシルエリスリトールリピッド (MEL) を生成する。

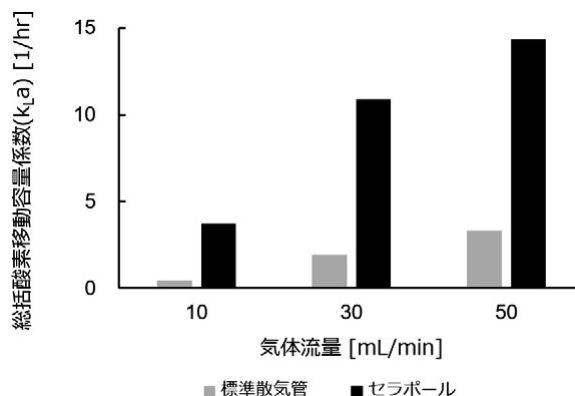


Fig.3 各散気管の総括酸素移動容量係数

まず2 Lジャーフェーマンター (BMZ-P-2L, ABLE Biott) へ各散気管を取り付け, *Pseudozyma hubeiensis* の培養 (実験条件: 培養スケール 1.2 L, 28°C, 200 rpm, 0.5 vvm) を行った. 時間経過による増殖曲線 (Fig. 4) により, セラポールを利用した場合のみ培養時間が 20 hr を超えたところで酵母は大きく増殖されることが確認された. 続いて, 3日培養時の *Pseudozyma hubeiensis* の BS 生産量を検証した (実験条件: 培養スケール 1 L, 25°C, 1 vvm, HPLC- 蒸発光散乱法により定量). MEL 生産量 (Fig. 5) から, 全攪拌速度の条件で生産量が促進されたことがわかった. さらに, セラポールを用いた 525 rpm 条件と標準散気管を用いた 1200 rpm 条件で MEL 生産量は同程度であった. 以上, セラポールでの通気により攪拌速度を下げても高攪拌速度時と同等の結果が得られることがわかった.

最後に, 組換え大腸菌による緑色蛍光タンパク質の生産量評価試験を行った. 実験条件は培養スケール 1 L, 37°C, 400 rpm, pH6.8-7.0 とした. 組換え大腸菌によるタンパク質生産量の時間変化 (Fig. 6) により, 標準

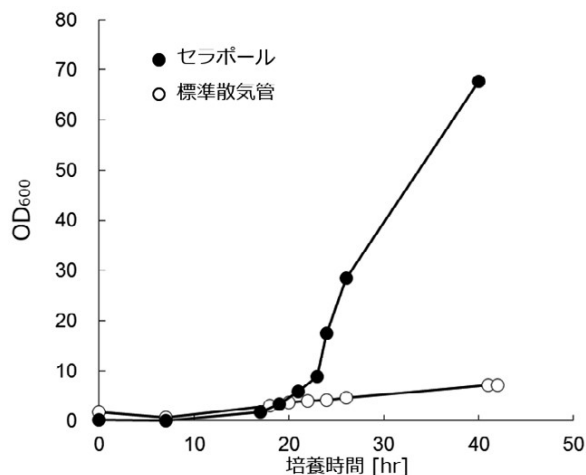


Fig.4 絶対好気性酵母の時間経過による増殖曲線

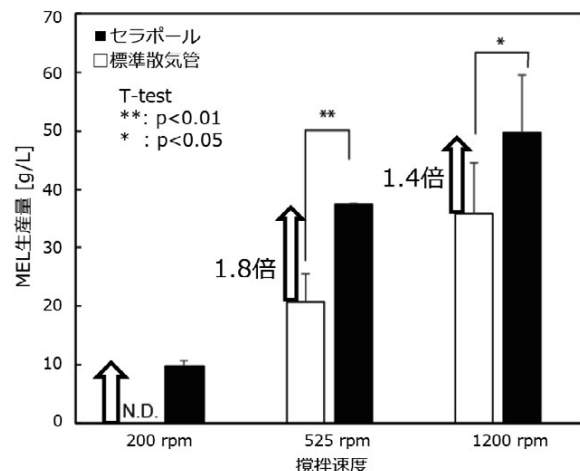


Fig.5 絶対好気性酵母による各攪拌速度の MEL 生産量

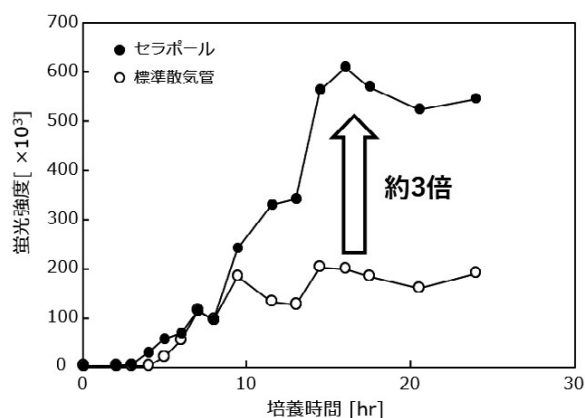


Fig.6 組換え大腸菌によるタンパク質生産量時間変化

散気管と比較しセラポールでは約3倍のタンパク質生産量となった. 大腸菌の場合でもセラポールによる生産量増加の再現性が確認できたといえる.

上記の結果は, 標準散気管では達成しえない超好気条件をセラポールにより達成したためといえ, 培養プロセスに非常に有用な効果をもたらす事が示された.

## 5. おわりに

本稿では, 菌体や酵母の培養について弊社製品によるファインバブルの利用法を紹介した. 今回の結果は, 単に培養プロセスの促進だけにとどまらず, 薬品や化学物質を必要とせず物理的攪拌の削減を達成した高効率の培養法という点において重要である. 昨今では企業活動によるSDGs (=Sustainable Development Goals; 持続可能な開発目標) の取り組みが注目されているが, 廃棄物削減や省エネといった目標の達成に弊社製品が貢献すると確信している. 本稿が皆様の一助になれば幸いである.

## 引用文献

- 1) K. Terasaka; Trends and Issued in Fine Bubble Technology, Kagaku Kougaku Kaishi, **78** (9), 580-584 (2014) (in Japanese)
- 2) S. Ueyama, M. Miyamoto; The World of Micro-Nanobubbles, Kogyo Chosakai, Tokyo, Japan, 2006, p67

## 謝辞

本試験は北見工業大学 小西正朗教授により実施されたものであり, 感謝の意を表する.