総 説

発酵工業における消泡剤

安 河 内 徹

日本油脂株式会社油化学研究所

(〒210 神奈川県川崎市川崎区千鳥町3-3)

Antifoaming Agent in Fermentation Industry

Tohru YASUKOCHI

Oleo chemicals research laboratory, NOF Corporation

(3-3 Chidori-cho, Kawasaki-ku, Kawasaki-shi, Kanagawa-ken, 〒210)

The antifoaming agents in general use are silicone and polyoxyalkylene derivatives, and vegetable oil and animal oil derivatives. In the fermentation industry, the major antifoaming agents are polyoxyalkylene derivatives. The reason for this and uses of antifoaming agents are discussed in the following.

1 はじめに

現在発酵法により医薬品や食品、工業原料など多種のものが生産されており、その製造方法も使用微生物や目的物、培地等の違いにより多岐にわたっている。

これら多くの製造プロセスに共通した問題として発泡がある。

たとえば好気発酵では、酸素を供給するために通気かくはんを行うが、このとき系中に泡を安定にする物質があると著しく発泡する。この泡を安定にする物質としては、培地初期では培養液中の栄養源（サポニン等）に由来するものがあり、培養後期では微生物の副生産物（多糖類やポリペプチド等）に由来するものがあると考えられている。

また嫌気発酵では、通常は通気かくはんを行わないため発泡はほとんど問題にならないが、培養終了後の精製工程において、微生物の遠心分離や培養液の濃縮時に発泡が問題となる場合がある。

固体培養の場合も、培養工程で発泡が問題となることはほとんどないが、目的物を取り出すのは一般的に水溶液で行うため、嫌気発酵の場合と同様精製工程での発泡は問題となる。

これらの泡は、装置の有効容量を低下させ生産性をダウンさせたり、異常発酵による品質異常を引き起こすため発酵工業においては大きな問題となる。

消泡剤はこれらの問題を回避するために必要な生産性向上剤である。

Fig.-1に発酵プロセスの概略と消泡剤の使用部分を

示す。

本稿では、現在発酵工業で主に使用されているポリアルキレングリコール系消泡剤の特徴と使用例を、いくつかの代表的な発酵生産物の製造プロセスを例にとり紹介する。

2 発酵系における消泡剤の選択基準

一般的に消泡剤というと、シリコン系やポリアルキレングリコール系のものが有名である。しかし、単に消泡という目的だけで使用するのであれば、これ以外にも種々のものが消泡剤として使用できる。

Fig.-2にモデル発酵系での種々の物質を用いた消泡テスト結果を示す。

Fig.-2に示したように、系に溶解しないものであれば植物油やアルコールなどの単純構造のものでもある程度の消泡効果を示す。しかし、発酵系では消泡剤を選択するのに、消泡力の他に考慮しなければならない重要な要素がいくつかあり、実際にはこれらを総合的に判断して使用消泡剤を選定している。

ここでいう考慮しなければならない重要な要素とは、次の3つである。

その一つめは微生物の生育や目的物の生産を阻害しないことである。

Fig.-3に消泡剤が増殖に及ぼす影響の一例を示す。

たとえ生産物が同じであっても、使用する微生物が異なれば消泡剤が生育に与える影響も異なってくる。酵母などの強い微生物の場合は消泡剤の影響はそれほどでもないが、放線菌やカビなどの敏感な微生物では生育に対

Fig.-1 Typical fermentation process and use of Antifoaming agent.

Test Condition

Microorganism : *Candida*. sp

Medium : *n*-Paraffin composite

Concentration of antifoaming agent : 100 ppm

Fig.-2 Antifoaming test with various materials.

する影響が顕著に現れるので、消泡剤の選択には消泡力・生産性の両面から十分にチェックしなければならない。しかし、構造と微生物への影響との関係はまだ理論的に解明されているわけではなく、現実的にはジャーファーマンターなどの実際に近い発酵系でテストするしか方法が無いようである。

ポリアルキレングリコール系消泡剤は、アルキル基や分子量やエチレンオキシドとプロピレンオキシドの含有

Test Condition

Microorganism : *Candida tropicalis*

Added 0.1 % of polyoxyalkylene derivative (PAG) in medium.

Fig.-3 The influence of Antifoaming agent on multiplication.

量など構造を任意に変更することができるので、シリコン系や動植物油と比べると有利である。

二つめの要素は、生産物からの消泡剤の除去性である。通常発酵生産物は溶剤抽出・遠心分離・イオン交換・晶析などの手法で精製されるが、このとき消泡剤の除去が困難であると大幅なコストアップの要因となる。消

Table-1 Typical property of several antifoaming agent.

	Polyoxyalkylene drv.	Silicone emulsion	Vegetable or animal oil
Short range effectiveness	○	◎	△
Long range effectiveness	○	△	○
Influence on microorganisms	○	Unknown	○
Removality	○	×	△
Cost	Middle	High	Low
Industrial use fermentation	Main	Small amount	Mainly abroad use

泡剤の選択には、生産物からの除去方法及びその難易度も考慮に入れておかなければならない。

ポリアルキレングリコール系消泡剤は、分子量が1 000~5 000と比較的低分子量であり、温度によって水に可溶となり生産物にも吸着されにくい、冷水洗浄・限外濾過などの手法により容易に除去できるのでこの点でも有利である。

最後の要素はコストである。発酵系では系の溶存酸素を高く保つため、消泡剤は自動添加装置により必要最小量が滴下される形式になっているが、培養期間が長いために全添加量は相当量になる。消泡剤の選択時には短時間の消泡力（破泡力）のみではなく持続性（抑泡力）も考慮に入れ、培養の全期間を通してのトータルコストで考えなければならない。

現在日本国内で使用されている発酵用消泡剤の大部分がポリアルキレングリコール系消泡剤であるのは、以上の3点を十分に考慮した結果であると考えられる。

Table-1 に各種消泡剤の性能を概念的に比較した結果を示す。

3 ポリアルキレングリコール系消泡剤の特徴

ポリアルキレングリコール系消泡剤は、ヒドロキシル基やカルボキシル基、アミノ基などの活性水素を持つ化合物にエチレンオキシドやプロピレンオキシドを反応させて合成する。消泡剤の性能は、主にエチレンオキシド鎖とプロピレンオキシド鎖のバランスと位置により決定される。

合成の概略を Fig.-4 に示す。

これはポリアルキレングリコール系消泡剤が消泡効果を発揮するのに、ポリアルキレングリコール系化合物の持つ曇り点（Cloud point）という特性を利用しているためである。

特定の構造のポリアルキレングリコール系化合物は、低温では骨格内のエーテル酸素に水分子が水素結合して親水性を増すために水に溶解するが、温度が上昇すると分子の活動エネルギーが大きくなり水分子が外れていき、親水基と疎水基のバランスがくずれミセル溶解が困

Fig.-4 Summary of polyoxyalkylene glycol derivative synthesis.

難となり、系中に析出しはじめるという性質を持っている。

このポリアルキレングリコール系化合物が系中に析出しはじめる温度を一般的に曇り点と呼んでいる。

一方消泡剤は、発泡している系に対して溶解している効果はなく分離している効果は小さいものであり、消泡剤が最大の効果を発揮するためには消泡剤が細かい粒子となって系に均一に分散していなければならないといわれている。

そのためポリアルキレングリコール系化合物は、曇り点より低い温度では消泡効果が全く無く、曇り点近辺で消泡力を示すようになり、曇り点よりやや高い温度で最大の消泡力を発揮し、曇り点より大幅に高温では再び消泡力が弱くなる。

Fig.-5 に曇り点と消泡力の模式図を、Fig.-6 に曇り点の異なる消泡剤を用いた場合の温度による消泡力の変化を示す。

ポリアルキレングリコール系消泡剤は、目的の発酵系の使用温度に合わせて、親水基と疎水基のバランスを変化させて曇り点を調節し、使用時に最大の消泡力を持つようにコントロールできるので便利である。しかしその反面、実際の発酵系では使用温度・使用微生物等が違

Fig.-5 The relationship between temperature and solubility of polyoxyalkylene derivative.

Test condition

Composition of test solution : Saponin (0.03 %) Polypeptone (1.0 %). Antifoaming agent (0.01 %)

Aeration volume : 200 mL/min

Fig.-6 Antifoaming test by polyoxyalkylene glycol with different cloud point.

ため使用する消泡剤もその系ごとに異なり、受注生産に近い状態で販売されているのが現状である。

4 代表的な発酵工業と消泡剤

以下に代表的発酵工業と消泡剤の関係の概略を述べ

Fig.-7 Summary of Baker's Yeast product process.

る。

4.1 パン酵母

酵母を利用するもっとも代表的なプロセスである。

使用微生物 : *Saccharomyces cerevisiae* 系統

使用培地 : 廃糖みつ (N, P 調整) → 糖は連続供給

培養方法 : 液体好気培養

プロセスの概要を Fig.-7 に示す。

殺菌工程 : 殺菌は培養槽、培地中の雑菌を殺すために、120~140°C で 2 h 程度蒸気殺菌をするのが普通である。パン酵母は強い微生物であり消泡剤の影響を受けにくいので、この段階から消泡剤を添加しておくことも多い。(この場合でも培養後期では発泡が著しくなるため、新たに消泡剤を自動添加装置により添加することになる。)

初期培養 : 培養はバッチ培養と連続培養の組み合わせである。まず糖濃度の低い培養液 (10 g/L 程度) に別の培養槽で前培養した種酵母を植菌し、バッチ単位で培養する。消泡剤は自動添加装置で液面 (発泡の上端) があるレベルになると自動的に滴下される。この段階ではまだ微生物の濃度が低いので発泡はそれほど問題にならない。

培養後期 : 初期培養された培養液をより大型の培養槽に移し、連続的に培養する。この段階では糖をその消費量に合わせて追加していくので、最終糖濃度は 100 g/L を超える。ここでは培養液の連続添加による液面上昇と微生物濃度の上昇により著しく発泡する。培養終了直前には消泡剤はほとんど連続して添加されることになる。

精製工程 : 培養終了後、パン酵母を遠心分離器 (イーストセパレーター) で下層に集め、冷水で何度か洗浄する。消泡剤はこの工程で、曇り点以下に冷却されて水に

Table-2 Antifoaming agent for Baker's Yeast

	Yields (g/L)	Effectiveness		Removality
		Short range	Long range	
Silicon emulsion	100	◎	△	×
PAG* (R-PO-H)	119	△	○	○
PAG* (R-PO-EO-H)	121	○	◎	◎
Vegetable oil	108	△	△	△

* PAG : Polyoxyalkylene glycol derivative.

可溶となり洗い流される。洗浄されたパン酵母はフィルタープレスで粗脱水された後、酵母脱水機で水分量を65~70%になるまで脱水され、生酵母となる。

パン酵母は比較的強い微生物であるので、消泡剤は消泡力と洗浄性からのみ選択してよい。Table-2 に各種消泡剤を用いた場合の消泡性能と生育阻害及び除去性について示す。

4.2 グルタミン酸ナトリウム (MSG)

グルタミン酸ナトリウム (MSG) の発酵は、パン酵母の場合と比べて著しく複雑である。これはパン酵母の発酵が微生物そのものが目的物であるのに対し、MSG の発酵では微生物の生産物を目的としており、しかもその生産物が生物の代謝の途中のもので、それを生物体内から排出させなければならないからである。

Fig.-8 に MSG 発酵の概要を示す。

MSG を多量に蓄積する微生物 (バクテリアの場合が多いが、使用微生物は各メーカーごとに異なる。例: *Corynebacterium* 属, *Micrococcus* 属, *Brevibacterium* 属, *Microbacterium* 属など) は、炭素、窒素、リン、ナトリウム、カリウムなどの他に生育するのに特殊

な有機化合物を必要とする。その化合物とはビオチンあるいはオレイン酸 (通常はオレイン酸カリウムなどの水に可溶の形で添加される) であり、そのどちらが必要になるかは使用微生物によって異なる。これらの化合物がないと微生物は全く生育せず、また過剰に存在すると生育が盛んになりすぎて体内に蓄積した MSG をすべて繁殖に消費してしまうことになる。そこで通常、ビオチンやオレイン酸の添加によりある程度微生物を繁殖させたのち、菌体内に蓄積した MSG を排出させるような効果を持った薬剤 (ペニシリンあるいは TWEEN 系の界面活性剤) を生産性向上剤として加えている。この時ペニシリンは細胞壁に作用し微生物にストレスを与え、TWEEN 系界面活性剤 (飽和脂肪酸 $C_{14}\sim C_{18}$ のポリオキシエチレンソルビタンエステル) は細胞膜に作用し膜厚を薄くする働きがあると考えられている。生産性向上剤の使用はもちろん使用微生物の種類によっても異なるが、使用する培地の種類によっても異なる。一般的に天然物 (廃糖みつなど) はビオチンが過剰に存在しているので生産性向上剤は必要不可欠であるが、合成系培地 (酢酸など) はビオチンが無いので、ビオチンの添加量を調整することにより生産性を上げることができる。

Fig.-9 に生産性向上剤の添加時期と MSG の生産量の関係の概略図を示す。

MSG の発酵は、パン酵母の場合と同様に半連続式培養で行われている。この発酵は酸素を大量に必要とする

Fig.-8 Summary of glutamic acid fermentation.
(I)

Fig.-9 Summary of glutamic acid fermentation.
(II)

発酵であり、通気量が多くかくはんも激しいので発泡しやすく、多量の消泡剤を必要とする。

そのため強力かつ廉価な消泡剤が望まれているが、使用する微生物が消泡剤の影響を受けやすいので、選択時には消泡力・生産性の両面から充分に検討しなければならない。現在、日本国内の発酵メーカーはポリアルキレングリコール消泡剤を使用しているが、発酵に使用している微生物・培地が各メーカーで異なるため、使用する消泡剤の構造もすべて異なっており互換性はほとんど無い。Table-2 に異なる微生物を用いた場合の消泡剤の影響を概念的に示す。

4.3 核 酸

工業的な核酸発酵としては、調味料としてのイノシン酸が有名である。

この発酵は大別すると以下に示す 3 種類の方法がある。

(1) RNA 分解法

パルプ廃液を栄養源に、*Saccharomyces cerevisiae* や *Candida utilis* などの酵母を培養し、そこから RNA を抽出する。抽出された RNA は、酵素分解により直接ヌクレオチドにされる方法や、化学的分解によりいったんヌクレオシドにされたのち再びリン酸化されてヌクレオチドにされる方法などを経由して、目的物の 5-イノシン酸や 5-グアニル酸になる。

(2) 直接法

Brevibacterium ammoniagenes などの変異株（アデニン要求あるいはアデニン・グアニン要求性変異株）を用いて直接ヌクレオチドを発酵生産し、目的物を得る方法。

(3) 発酵&合成法

Escherichia coli や *Aerobacter aerogenes*, *Salmonella typhimurium* などのプリン要求性変異株を用いて、まずヌクレオシドを発酵生産し、つづいて化学的合成手法によりリン酸化してヌクレオチドを得る方法。

これらの 3 種の方法は使用する培地や微生物が大きく異なっているが、今回は工業的に一番盛んに行われている RNA 分解法についてのみ説明する。

4.3.1 RNA 分解法

この発酵はパルプ廃液を栄養源として酵母を培養し、得られた酵母中の一部を資料用酵母とし、残りの一部の酵母より RNA を抽出する方法である。この発酵のプロセスを Fig.-10 に示す。

培養工程では、大量の酵素を必要とするので通気・かくはんを激しく行い培養液はホイップクリームに近い状態になる。この工程では、ホイップクリームを安定化させるとともに液面を一定なレベルに維持する必要があるが、比較的消泡力の強くない低 HLB の界面活性剤などが消泡剤として用いられる。強力な消泡剤を使用すると酸素不足になり異常発酵が起こる場合があるためである。

遠心分離工程では、ホイップクリームの状態を破壊し酵母を取り出すため、強力な消泡剤が必要となる。この段階での消泡剤としては、4.1 項で述べたポリオキシエチレンオキシプロピレンモノアルキルエーテルなどが用いられる。

次の工程は酵母から核酸を抽出する工程であるが、抽出剤としては通常 40~60℃ で数 % の濃度の食塩水が使用されるので、上記のようなポリアルキレングリコール誘導体は塩析し凝集しやすくなる。そのためここでは、グリセリン等の多官能アルコールのポリオキシアルキレングリコール誘導体やポリオキシエチレンオキシプロピレングリコール脂肪酸エステルなどの分散力の強い消泡剤が使用される。

4.4 その他のアミノ酸

他に発酵法で生産されるアミノ酸としてはリシン、フェニルアラニン、アスパラギン酸などがあるが、これらに用いられている消泡剤は、MSG や核酸に用いられているものを微生物への影響と消泡性能のみチェックして

Table-3 Concept ; Influence of antifoaming agent against glutamic acid biosynthesis microorganism.

Structure of antifoaming agent	Type of microorganism			
	Type A	Type B	Type C	Type D
HO-(PO)-OH	100	80	80	70
HO-(PO) (EO) (PO)-OH	50	100	70	60
HO-(EO) (PO) (EO)-OH	80	60	100	50
RO-(EO/PO)-OH	60	70	70	100
RO-(PO) (EO)-OH	70	70	70	80

These are all conceptual value summaried both antifoaming performance and growth inhibition.

Fig.-10 Summary of nucleic acid from pulp spent liquor.

Fig.-11 Typical penicillin industrial process.

使用する場合が多い。

4・5 ペニシリン

抗生物質の製造ではアミノ酸等の発酵と栄養源が異なり、種々の物質が栄養源として使用されている。大豆粉や大豆油を主原料として、複数の栄養源を混合して使用する例が多い。

Fig.-11 にペニシリン発酵の概要を示す。

培養工程：ペニシリンは一般的に、*Streptomyces* 属、*Penicillium* 属を大豆油、乳糖、コンスチープリカー、大豆粉を配合した培地で培養し、発酵中にペニシリンの前駆体であるフェニル酢酸を連続添加することにより生産される。培養中は通気・かくはんを行うため発泡する

ので、消泡剤を使用する。

精製工程：培養液は滲過後、向流抽出機を用いてペニシリンを溶剤抽出する。抽出は硫酸酸性(pH 2.5程度)条件下で、酢酸ブチル等のエステル系溶剤を用いて行う。この時溶剤層と水層の界面が分離しにくいので、エマルションブレイカーとしてアルキルアンモニウムクロリド等のカチオン系界面活性剤を用いる場合が多い。

こうして溶剤層に抽出されたペニシリンは、再び水と混合され、アルカリ側にpH調整されることにより、水層へ再抽出されたのち、晶析やイオン交換などの手法で精製される。

ペニシリン発酵に使用される消泡剤に要求される性能は次の通りである。

①微生物の発育阻害が無いこと

この発酵に使用する微生物はカビや放線菌などが主体であるため消泡剤の影響が非常に大きくなり、また微生物の種類により影響度も変化する。

使用する消泡剤によっては、生産性に重大な影響を与える場合があるので注意が必要である。

②溶剤層から水層へペニシリンを移行する際に、消泡剤と一緒に移行しないこと。

消泡剤がペニシリンと一緒に移行すると、精製工程が著しく煩雑になり、大幅なコストアップの要因になる。

抗生物質の発酵は生産物の種類も多く栄養源もまちまちであるため、アミノ酸のように巨大な発酵槽を使用することが少なく、小さな発酵槽をいくつか使用してバッチ式で培養することが多い。また消泡剤も共通使用できないものが多いので、実生産前にジャーファーメンターなど現実に近い条件でテストしておくことが必要である。

4・6 その他の発酵

4・6・1 セルラーゼ

酵素の製造は固体培養が多く消泡剤を使用しないことが多いが、セルラーゼは液体培養で製造することができるので消泡剤を使用している。

消泡剤は、これまで述べてきた消泡剤などから生産性・消泡力をチェックして使用している。

4・6・2 有機酸

発酵法で生産される有機酸としてはクエン酸が最大である。他に酢酸・乳酸などがあるが、酢酸・乳酸は嫌気発酵であり発泡はほとんど無く、また生産物を食品として利用するケースが多いため、国内では消泡剤は使用していない。

4・6・3 排水処理

活性汚泥による排水処理は本来この文で述べる内容ではないが、微生物を有効に利用している重要なプロセス

であり、消泡剤を多量に使用している分野であるので概要のみ述べておく。

活性汚泥は微生物がブロック状に集合したもので、微生物の持つ代謝機能を利用して排水中の有機物を分解するのに用いられており、一般的には(曝)気方式により酸素供給が行われている。

活性汚泥処理では、発酵工業の場合と異なり処理水の質や発泡原因物質が日々変化し発泡も著しいため、消泡剤としては分散力の強い強力なものが使用されている。また使用される活性汚泥は、通常強い微生物が使用されるため消泡剤の影響をあまり受けないので、消泡剤の選択は消泡力のみを基準として良い。

5 おわりに

消泡については、ROSSの破泡理論を代表としてこれまで数多くの説明がなされてきている。しかし発酵工業においては、相手が生物であることから理論のみでは説明しきれない部分が多くある。発酵工業における消泡剤の選択基準は、①消泡力(破泡力よりも抑泡力=持続性)、②生産性(微生物への影響)、③除去性などであり、実際の選択に際してはこれらを総合的に考慮して判断しなければならない。発酵工業における消泡剤は今から15から20年前にさかんに検討されており、このとき検討された消泡剤が現在もお工業的に使用されているのが現状である。この理由には、いろいろなことが考えられるが微生物に影響を与えない消泡剤の構造がある程度限定されてしまうことも要因の一つになっていると考えられる。最近になり、これまでの消泡剤と発想を変えたシリコーンネットやシリコーングリースなどの発酵槽組み込み型の消泡装置も提案されており、今後の動向が注目される。

[平成5年(1993年)4月22日受理]

※ 本文は、日本油脂(株)が消泡剤メーカーとして永年研究してきた内容をもとに、下記の特許・文献を再構成したものです。

文 献

- 1) 特許公告 昭41-20077
- 2) 特許公告 昭45-26711
- 3) 特許公告 昭47-623
- 4) 特許公告 昭47-32679
- 5) 特許公告 昭53-8798
- 6) 特許公告 昭52-49069
- 7) 秋本新一ら, "アルキレンオキシド重合体", 海文堂出版, (1990)
- 8) 吉田時行ら, "界面活性剤ハンドブック", 工学図書, (1987)