

## アプリケーションデータシート #033

三角フラスコ用DO/pH測定システム **SHAKE FLASK READER SFR** No.1

# 酸素移動容量係数 ( $k_L a$ ) でみる振とう速度と振幅の関係



## 最新のテクノロジーで振とう培養における定説や慣習を再検証する【序章②】

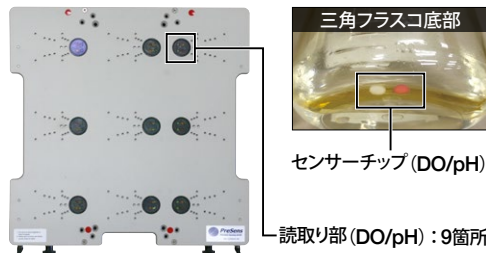
### 概要

好気的な微生物培養では培養液への酸素供給が培養効率の律速になることが多く、「(液側の)酸素移動容量係数:  $k_L a$ 」で評価する場合はしばしばある\*。 $k_L a$ は気相中の酸素が液相、つまり培養液に溶け込む速度を表すパラメータであり、即ちエアレーションの良し悪しを示す。ただ、強制通気ならまだしも、通常の振とう培養においては微生物の好気的呼吸によって発生する二酸化炭素が容器外へ排出されないと容器内空気の置換が邪魔されるため、嫌気的な状態になってしまうことが知られている(ADS#026参照)。故に通常の振とう培養では  $k_L a$ のみで培養効率が決まる訳ではないのだが、ひとつの指標として参考にはなる。弊社の恒温振とう培養機には振幅を変更できるものが多いため、「振とう速度と振幅の関係」や「振幅と培養効率の関係」についてのご質問が寄せられてくる。容器サイズと液量、振とう速度の違いによる  $k_L a$ の変化についてはインターネットで見つけることができるが、「振幅の違い」までも含めて調べた情報を見つけることはできなかった。そこで今回は、「振幅」が  $k_L a$ に与える影響を三角フラスコ用DO/pH測定システム(SFR)を用いて実際に調べた結果をご紹介します。

\*気相から液相へのガス移動については、LewisとWhitemanの二重境界膜説が使用されている<sup>1)</sup>。即ち、気液界面を境に気相側と液相側それぞれに境界膜があり、気相から液相へのガスの移動速度(総括酸素移動容量係数:  $K_L a$ )はそれぞれの境界膜内での移動速度によって左右される。通常、気相側のガス移動は液相側に比べて非常に大きく抵抗にならないため、液相側の移動速度(液相酸素移動容量係数:  $k_L a$ )として測定され、使用される<sup>2)</sup>。

### 〈SFR〉について

〈SFR〉は蛍光消失時間方式により、溶存酸素(DO)および水素イオン濃度指数(pH)を、非接触で同時に複数の三角フラスコに対してモニタリングできるシステムである。大型の〈バイオシェーカー®〉等に載せるだけで簡単に使用できる。データはパソコンに無線送信される。測定には消耗品である「センサーフラスコ」(以下、三角フラスコと表記)が必要ではあるが、振とう培養における各パラメータが一目瞭然になるため有用である。今回は〈SFR〉と〈バイオシェーカー®〉を使用して『各サイズの三角フラスコを振とう速度および振幅を変えて振とうした場合の  $k_L a$ 』を算出した。



型名	SFR
測定範囲	O <sub>2</sub> : 0 ~ 100% (気液両用) pH: 5.5 ~ 8.5



↑〈バイオシェーカー® G-BR-300〉の振とう台上に固定した状態。ツメクランプの交換により125mL ~ 2Lの三角フラスコ(センサーフラスコ)が使用でき、最大架数は9個(三角フラスコのサイズにより変動)。詳細はWebを参照のこと。

### 亜硫酸ソーダ法による $k_L a$ の測定・算出の方法と結果

恒温振とう培養機…バイオシェーカー® G-BR-300  
温度、容器、試料…+37°C、三角フラスコ、無酸素水を容器の33% (v/v)

2gの亜硫酸ナトリウムを水道水に溶かして1Lにし、無酸素水を作った。これを各三角フラスコに入れてバイオシェーカー®に取り付けた〈SFR〉に載せ、振とうによる溶存酸素濃度の変化をモニタリングした。得られたデータから、下記の計算式<sup>1,2)</sup>で  $k_L a$ を算出した。

飽和溶存酸素濃度を100%とし、10%から90%まで変化した時の  $k_L a$  [1/hr]

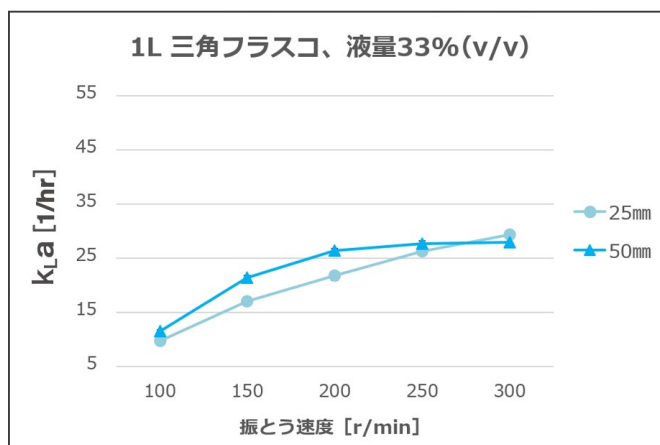
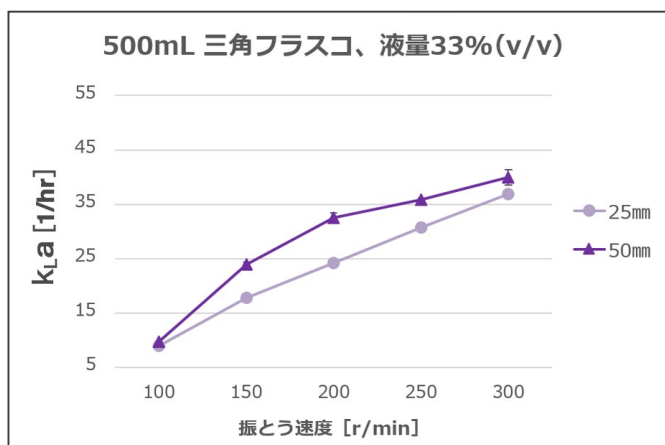
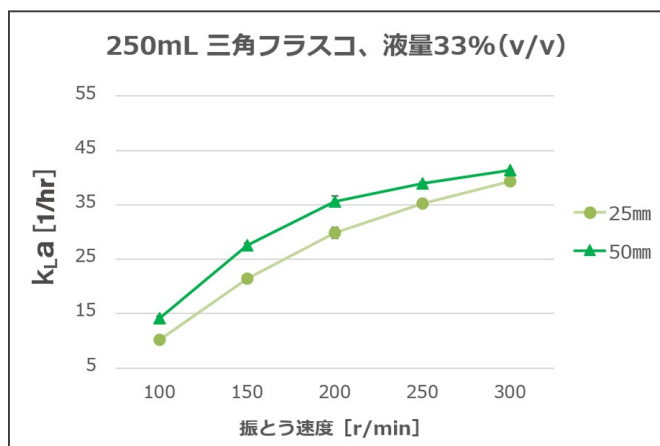
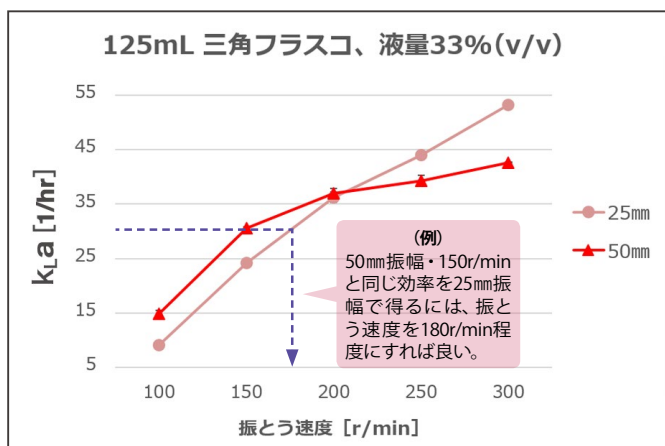
$$k_L a = \ln \left\{ \frac{(100 - 10)}{(100 - 90)} \right\} \div (t_2 - t_1) \times 60$$

ここでlnは自然対数である。  $t_1$ は10%になるまでに要した時間 [min]、  $t_2$ は90%になるまでに要した時間 [min] であるが、インターバル(本実験では10秒)の関係で濃度・時間ともに多少前後するため、実験毎に多少のばらつきが生じた。振とう条件毎の  $k_L a$  を右表に示したが、各値とも4回以上実験を行って得た結果の平均値である(見やすくするため、小数点以下を四捨五入した)。グラフは、三角フラスコのサイズごとに分けて裏面に記載している。

$k_L a$ [1/hr]	三角フラスコ	振とう速度	振幅25mm	振幅50mm
	125mL		100r/min	9
150r/min			24	31
200r/min			36	37
250r/min			44	39
300r/min			53	43
250mL		100r/min	10	14
		150r/min	21	28
		200r/min	30	36
		250r/min	35	39
500mL		300r/min	39	41
		100r/min	9	10
		150r/min	18	24
		200r/min	24	33
1L		250r/min	31	36
		300r/min	37	40
		100r/min	10	12
		150r/min	17	21
		200r/min	22	26
		250r/min	26	28
		300r/min	29	28

●振とう速度と振幅の関係性を振とう培養に活かすためのグラフ

得られた $k_La$ を三角フラスコのサイズ毎にグラフにして見ると、小さい振幅を振とう速度で補ったり、振とう速度を無意味に速くするといったことを避けられることが分かった。基本的に容器が小さくて振とう速度が速く振幅が大きいほど $k_La$ が大きくなったが、125mLでは200r/minを境に25mmと50mmの関係が逆転した。1Lでも300r/minを境に同様の逆転現象が見られそうであったが、301r/min以上かつ振幅50mmでSFRと1Lの荷重を振とうできる振幅切換式の振とう培養機を用意できなかったため、確認できなかった(弊社BR-180LFならば振幅25mmかつ回転振とう限定で400r/minが可能ではある)。本結果を活用する場合はこの逆転現象があることに留意して、都度グラフを確認して頂きたい。



考察

いくつかある $k_La$ の測定方法それぞれの信頼性についてはここでは割愛するが、今回の実験で分かったことは、振とう速度や振幅といったターゲットのパラメータ以外の要因でも $k_La$ が容易に変わることだった。具体的には、三角フラスコの固定具合である。実験開始当初、低速ではツメクランプのスプリングを使わずに振とうしていたところ、 $k_La$ の再現性が低く、場合によっては大きい三角フラスコの値が小さい三角フラスコのものよりも大きくなることもあった。しかしながらそれに気づいてからは、再現性を向上させることができた。本実験は $k_La$ を指標にして振とう速度と振幅の関係性をみる目的のため $k_La$ の再現性が重要であったが、このように些細な要因でも $k_La$ は容易に変わってしまうため、実際の振とう培養において参考にする場合や自身で算出する場合は絶対的な値と捉えるのではなく、容器の大きさや液量、振とう速度、振幅といったパラメータ間における相対的な値と捉えておくことが良さそうである。従って、本実験を異なる振とう培養機や容器固定方法で追試した場合は、同じ値にならない場合があることを付け加えておく(測定方法によっても異なる値になる<sup>1)</sup>)。□



著者・編集

タイテック株式会社  
企画開発部 宣伝企画グループ  
〒343-0822 埼玉県越谷市西方2693-1  
TEL: 048-988-8341 FAX: 048-988-8346 E-mail: senden@taitec.org  
Web: http://taitec.net/

参考文献

- 1) 環境技術 Vol. 11 No. 10 (1982) 739-745 (環境技術協会)
- 2) 微生物利用の大展開 (2002年初版) 544-545 (エヌ・ティー・エス)

[2017年10月発行]

各製品や本紙の内容に関するお問い合わせは、左記までお願い致します。

●『バイオシェーカー』『BioShaker』は、タイテック株式会社の登録商標です。