

[J. Ferment. Technol., Vol. 53, No. 1, p. 18~26, 1975]

## 菌糸懸濁液の攪拌における菌糸に与える衝撃の強さを表わす基準について\*

田中 秀夫・高橋 穰二・上田 清基

東京教育大学農学部生物化学工学科

### A Standard for the Intensity of Agitation Shock on Mycelia on Agitation of Mycelial Suspensions

Hideo Tanaka, Joji Takahashi, and Kiyomoto Ueda

Department of Biochemical Engineering, Tokyo University of Education, Tokyo

On agitation of mycelial suspensions of *Mucor javanicus* and *Rhizopus javanicus* at a constant impeller speed, intracellular nucleotides leaked from mycelia to water in direct proportion to agitation time. The rate of leakage determined was dependent on the agitator speed.

1. On agitation of mycelial suspensions, and in aeration-agitation cultures of the mold, RNA-related nucleotides, mostly mononucleotides, were caused to leak by the mechanical agitation.

2. The phenomenon was not caused by the fracture of mycelia.

3. The composition of the nucleotides was the same regardless of culture apparatus and culture age. From the above results, the rate of leakage of intracellular nucleotides at a mycelial concentration of 100 mg dry weight per 100 ml,  $\Delta E_{260}$ , was proposed as a standard for the intensity of agitation shock on mycelia on agitation of mycelial suspension.

This standard correlated satisfactorily with the impeller tip velocity when compared with the modified Reynolds number and power consumption per unit volume. Further, the number of baffle plates and the viscosity of the mycelial suspension affected  $\Delta E_{260}$ .

The values of  $\Delta E_{260}$  for the jar fermenter and the shaking flask under conditions of equal oxygen supply were determined. The intensity of shock on mycelia in the jar fermenter was found to be about 2 to 3 times that for the flask. On the basis of these results, it was supposed that the intensity of shock on mycelia in the jar fermenter and the flask in practical culture would also be as mentioned above in early phase of growth.

## 結 論

前報<sup>1,2)</sup>で著者らは、*Mucor javanicus* の菌糸懸濁液を攪拌したとき、および、菌を通気攪拌培養したとき、

\* 糸状菌の液内培養における菌糸に与える攪拌の影響に関する研究（第3報）  
Studies on the Effect of Agitation on Mycelia in Submerged Mold Culture (III)

機械的攪拌により、菌糸内から核酸関連物質の漏出が促進される現象を見出した。また、その漏出物質の大部分は RNA の構成成分であるモノヌクレオチドであることを明らかにした。攪拌の強さによりその漏出量が異なるが、その核酸関連物質は、攪拌によって菌糸が切断された結果、菌糸外へ排出されたものでないことを見出した。さらに、培養装置や増殖期が異なる

っても、液中に漏出したモノクレオチド組成に相違が見られなかった。このような事実から、攪拌によって糸状菌菌糸に与える衝撃の強さを、菌糸内から菌糸外へ排出される物質を基準にしてあらわそうとする、最初の目的を達成する可能性が得られた。

本報では、*Mucor* および *Rhizopus* 属の両菌糸懸濁液を用い、攪拌によってそれぞれの菌糸から漏出するヌクレオチド類の漏出速度をもって、攪拌によってそれぞれの菌糸に与える衝撃の強さを表わす相対的な基準として用いられることを明らかにした。また、*Rhizopus javanicus* の菌糸を用いて、同じ酸素供給条件下で、フラスコとジャーにおける菌糸に与える衝撃の強さを、この基準により比較した結果、大きな相違が認められたので報告する。

### 実験方法

**使用菌株** *Mucor javanicus* NI 1051 および *Rhizopus javanicus* Takeda を用いた。

**菌糸懸濁液の調製** *Mucor javanicus* を馬鈴薯寒天斜面に、*Rhizopus javanicus* を麴寒天斜面に、それぞれ接種したのち、30°C で 5 日間培養し、着成した胞子に殺菌水を無菌的に加えて胞子懸濁液をつくる。別に 1 l 振盪フラスコにグルコース—ペプトン培地<sup>1)</sup> 200 ml を入れ、120°C 12 時間加圧殺菌した。両菌株のそれぞれの胞子を、フラスコ培地に  $3 \times 10^5$  個/ml となるように無菌的に加え、往復振盪機 (115 oscills/min, 振幅 70 mm) 上で 30°C で培養をおこなった。24 時間の培養で増殖した両菌株の菌糸を、それぞれについて蒸留水で 3 回洗浄した。菌糸濃度として、特に言及しない限りは水 100 ml 当り乾燥菌糸重量が 100 mg となる

ように調製した。

**攪拌装置** 攪拌装置として、Fig. 1 および Table 1 に示すような 5 l および 10 l ジャーフェーマンターと振盪機上のフラスコを用いた。ジャーでは攪拌羽根の回転速度を 0 から 800 rpm の間でおこなった。また、5 l ジャーフェーマンターでは、サイズのちがう 3 種類の攪拌羽根を用いて攪拌強度を変化させた。フラスコの場合は、往復式および回転式の振盪機を用いた。往復式では 500 ml 振盪フラスコを用い、振盪は 70 mm 振幅で毎分 100~135 往復の範囲でおこなった。回転式では、液の攪拌は側壁の邪魔板の数が 0~4 枚の 500 ml エルレンマイヤーフラスコを用いた。回転速度は 220 rpm でおこなった。両フラスコで使用した液量はいずれも 100 ml であった。

**ヌクレオチドの漏出量 ( $E_{260}$ ) の測定** 菌糸懸濁液を所定時間攪拌したのち菌糸を濾別し、その濾液について分光光度計 (日立製作所製, Perkin Elmer 139 型) を用い、波長 260 nm における吸光度を求め、その測定値を  $E_{260}$  として示した。また、測定には幅 10 mm の石英キュベットを用いた。

**菌糸重量の測定** 菌糸懸濁液を濾紙上に濾別し、

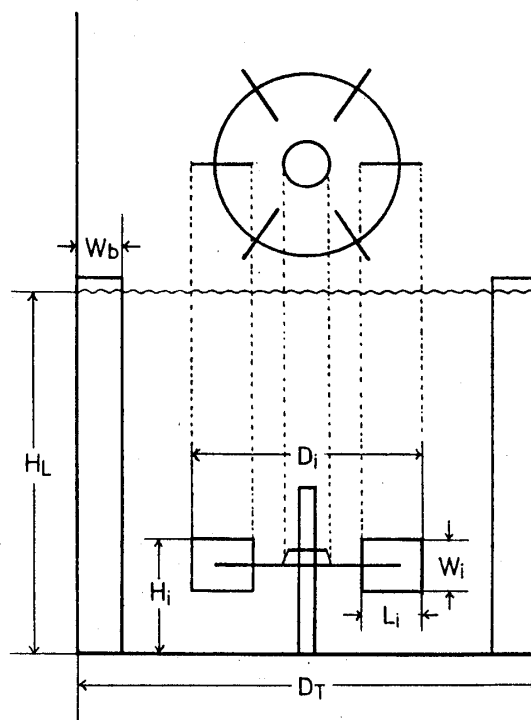


Fig. 1. Diagram of jar fermenter.

$D_T$ =fermenter diameter,  $D_i$ =impeller diameter,  $H_L$ =liquid depth,  $H_i$ =location of impeller from bottom of fermenter,  $L_i$ =blade length of impeller,  $W_b$ =width of baffle plate,  $W_i$ =impeller width

Table 1. Dimensions of jar fermenters.

|                            | 5 l<br>Jar fermenter | 10 l<br>Jar fermenter |
|----------------------------|----------------------|-----------------------|
| Working volume             | 2.5 l                | 5.0 l                 |
| $D_T$                      | 16.8 cm              | 20.0 cm               |
| $D_i/D_T$                  | 0.38, 0.50, 0.60     | 0.50                  |
| $H_L/D_T$                  | 0.67                 | 0.83                  |
| $W_b/D_T$                  | 0.1                  | 0.1                   |
| $H_i/H_L$                  | 0.13                 | 0.11                  |
| $L_i/D_T$                  | 0.15                 | 0.13                  |
| $W_i/L_i$                  | 0.65                 | 0.72                  |
| Number of<br>baffle plates | 4                    | 3                     |

水で3回洗浄したのち、105°Cで恒量になるまで乾燥させ秤量した。

**粘度の測定** 菌糸懸濁液の見掛け粘度 ( $\mu_{ap}$ ) は、Brook field 型 (大洋計器製作所製, BL 型) の粘度計を用い、佐藤<sup>3)</sup>の方法により、ローター No. 1, 回転数 60 rpm の時の粘度計の読みから求めた。

**酸素移動容量係数 ( $k_{La}$ ) の測定** 窒素ガスを用いる gassing-out 法<sup>4)</sup>で求めた。溶存酸素濃度は酸素分析計 (Beckman Model 777 型) で測定し、センサー先端位置をジャーフェーマンターでは攪拌羽根の先端の近辺に、フラスコでは底近くに設定した。なお、菌糸懸濁液での  $k_{La}$  測定の際には、呼吸を停止させるため、あらかじめアジ化ナトリウムを添加して測定した。アジ化ナトリウムは、懸濁液中の乾燥菌糸重量の2倍量添加した。

### 実験結果および考察

**攪拌した菌糸懸濁液の濾液の紫外外部吸収スペクトル** *Mucor* および *Rhizopus* 属の菌糸懸濁液をジャーフェーマンターに入れ、攪拌機の回転速度 600 rpm で、180 分間攪拌後、菌糸を除いた濾液の紫外外部吸収スペクトルを測定した (Fig. 2)。いずれの菌株についても、波長 260 nm に極大吸収、240 nm に極小吸収を持つ

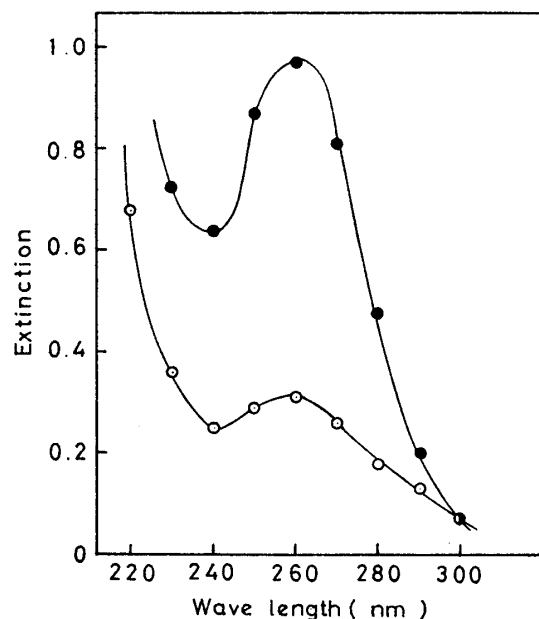


Fig. 2. Ultraviolet absorption spectra of culture filtrates.  
(5l jar fermenter,  $D_t/D_T=0.5$ , 600 rpm, agitation-time=180 min)  
●—● *M. javanicus* ○—○ *R. javanicus*

物質の存在が認められ、その漏出物質は、RNA 構成成分であるモノヌクレオチドであることを前報<sup>1)</sup>と同様に確認した。しかしながら、その漏出量は、同じ攪拌条件でも、菌株によって異なることが認められた。

菌糸の培養時間と漏出核酸関連物質量の関係を、両菌株について検討した結果を Fig. 3 に示した。図の  $E_{260}$  は 600 rpm, 120 分間攪拌した時の値である。両株とも菌糸が若いほど、機械的攪拌に対して漏出量が多かった。従って、菌令の影響を避けるためこれまでの実験のように24時間培養した菌糸を用いた。

**核酸関連物質の漏出経過** *Mucor* および *Rhizopus* 属の両菌糸懸濁液を、ジャーフェーマンター内で種々の速度で攪拌した時の核酸関連物質の漏出経過を、Fig. 4 および Fig. 5 に示した。この場合、通気はおこなわず、懸濁液の菌糸濃度は乾燥重量として 100 mg/100 ml であった。両図において明らかなように、各々の攪拌速度についての漏出量と時間のあいだには直線関係があり、攪拌速度が高いほど、その傾きは大きかった。また、各直線は延長するとグラフの原点を通らず、縦軸と交わり、攪拌速度が高いほど、その切片が大きかった。直線が原点を通らないのは、攪拌開始時に静止している浮遊菌糸に対する瞬間的な衝撃が無視できないほど大きいことを示している。

以上の結果より、核酸関連物質の漏出量は機械的攪拌の強さを増せば、ある時間内では、時間に比例して

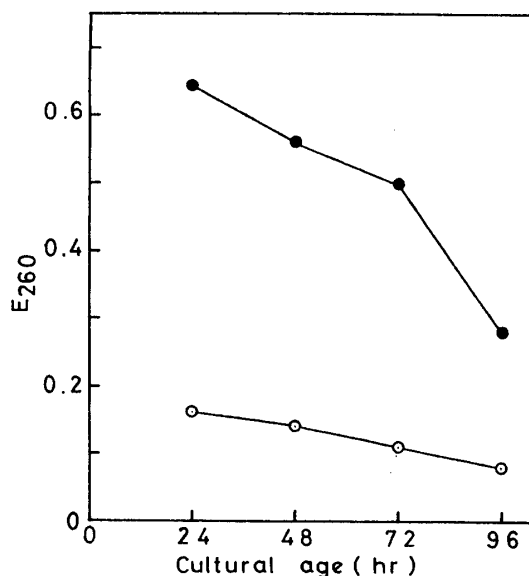


Fig. 3. Relation between cultural age of mycelia and amount of leaked nucleotides.  
(5l jar fermenter,  $D_t/D_T=0.5$ , 600 rpm, agitation-time=120 min)  
●—● *M. javanicus* ○—○ *R. javanicus*

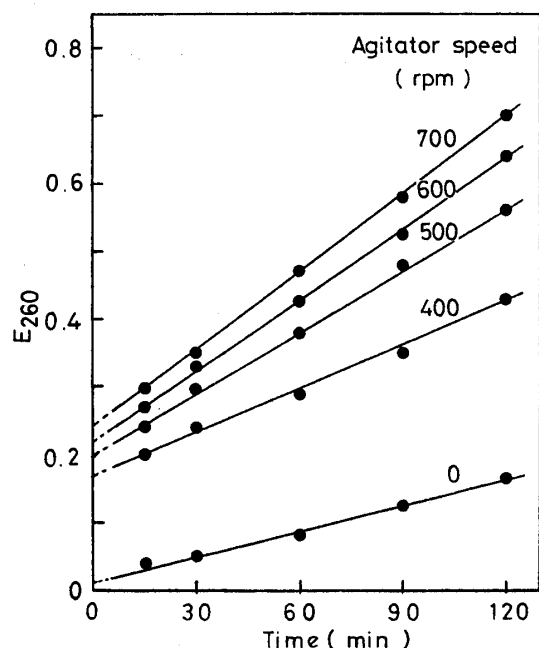


Fig. 4. Effect of agitator speed on amount of nucleotides leaked from *Mucor* mycelia. (5 l jar fermenter,  $D_i/D_T=0.5$ )

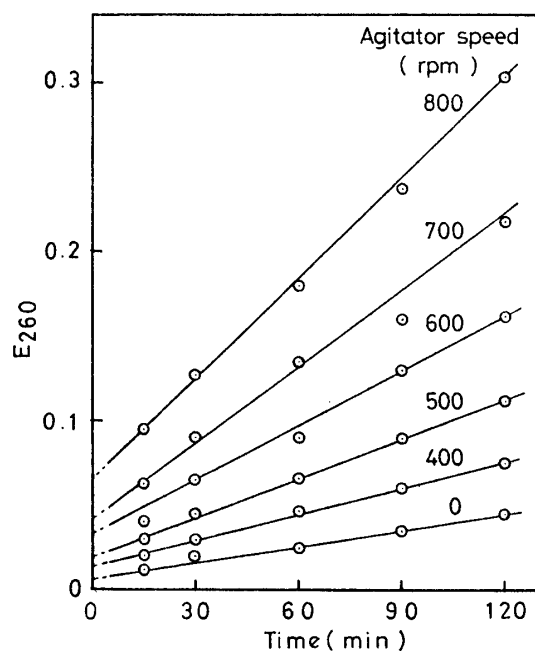


Fig. 5. Effect of agitator speed on amount of nucleotides leaked from *Rhizopus* mycelia. (5 l jar fermenter,  $D_i/D_T=0.5$ )

増大することを明らかに示している。前報までの漏出物質についての知見を合せて考えれば、攪拌開始時の縦軸の切片に相当する漏出量、あるいはその後における漏出速度のいずれも、使用菌糸に与える衝撃の強さを表わす相対的な基準とすることができると考えられ

る。前者は菌糸懸濁液の調製の際の前処理に影響されやすく、その数値の再現性にやや乏しかったので、後者の核酸関連物質の漏出速度を基準として取り上げることが適当であると考えた。また、無攪拌条件でも極めて少量のヌクレオチドが漏出し、120分以上の攪拌で、直線関係が次第に得られなくなった。従って、ここで使用菌株について攪拌により菌糸に与える衝撃の強さを、120分間の攪拌によって得られる核酸関連物質の漏出直線の傾きより求められる漏出速度と、同様にして得られる無攪拌時の漏出速度の差と定義し、乾燥重量で菌糸濃度を表わした場合、100 mg/100 ml における衝撃の強さを  $\Delta E_{260}$  で表現することとした。

**$\Delta E_{260}$  と流動の攪拌強度を示す一般的な指標との関係**  
攪拌によって菌糸に与える衝撃の強さ、 $\Delta E_{260}$  が、一般的に用いられている液の流動状態を示す変形レイノルズ数や、単位液量当りの所要動力、攪拌羽根の先端速度のような攪拌強度を示す指標とどのような関係にあるのかを検討した。

#### (1) $\Delta E_{260}$ と変形レイノルズ数との関係

5 l および 10 l ジャーを用い *Rhizopus* 属菌糸について、 $\Delta E_{260}$  と変形レイノルズ数 ( $N_{Re}$ ) との関係を Fig. 6 に示した。菌糸懸濁液の見掛け粘度 ( $\mu_{ap}$ ) および密度 ( $\rho$ ) の値は、それぞれ 5.6 (c.p.) と 1.001 (g/cm<sup>3</sup>) であった。各攪拌条件における実験値は余りにも分散しているため、全ての攪拌条件に対して  $\Delta E_{260}$  と  $N_{Re}$  の間には一定の直線関係は認められなかった。

#### (2) $\Delta E_{260}$ と単位液量当りの所要動力との関係

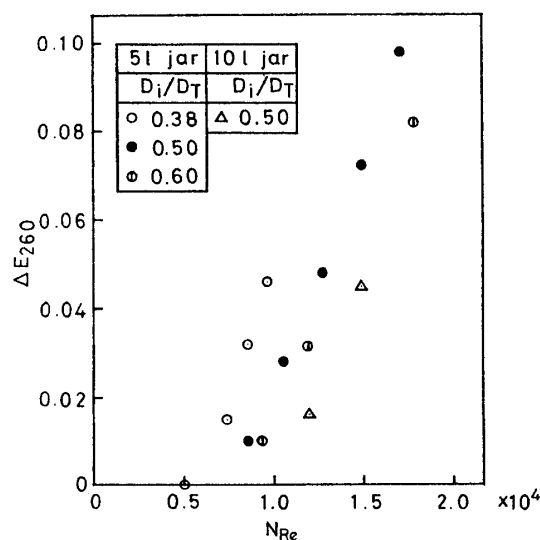


Fig. 6. Relation between  $\Delta E_{260}$  and modified Reynolds number. (*R. javanicus*)

5l および 10l ジャーファーマンターを用い、*Rhizopus* 属菌糸について、 $\Delta E_{260}$  と単位液量当りの所要動力 ( $P_V$ ) との関係を検討した結果を Fig. 7 に示した。単位液量当りの所要動力は、一般に次式のように表わされる。

$$P_V = P_{Vc} (N^3 D_i^5 V / N_c^3 D_{ic}^5 V_c) \quad (1)$$

ここで、 $N$ ,  $D_i$ ,  $D_T$  および  $V$  は、それぞれ、攪拌速度、攪拌羽根の径、ジャーファーマンター径および液量である。また、 $P_{Vc}$  は単位液量当りの基準所要動力で、5l ジャーファーマンターの攪拌装置において、 $N_c$ ,  $D_{ic}$  および  $V_c$  の値が、それぞれ、600rpm, 0.5  $D_T$  および 2.5l を用いた時の値である。従って、ここでは  $P_{Vc}/P_{Vc}$  と  $N$  および  $D_i$  を変化させたときの  $\Delta E_{260}$  との関係が求められる。明らかに、用いた全攪拌条件において、両者の間にある程度の直線関係が認められた。

### (3) $\Delta E_{260}$ と攪拌羽根の先端速度との関係

5l および 10l ジャーファーマンターを用い、*Mucor* および *Rhizopus* 属の両菌糸について、 $\Delta E_{260}$  と攪拌羽根の先端速度 ( $V_t$ ) との関係を検討した結果は、Fig. 8 に示した。いずれの菌糸についても、 $\Delta E_{260}$  と攪拌羽根先端速度との間に明確に直線的な相関関係が認められ、次のような実験式を得た。

$$\Delta E_{260} = k_1 (V_t - c_1) \quad (2)$$

ただし、 $V_t = \pi N D_i$ ,  $k_1$  および  $c_1$  は実験定数

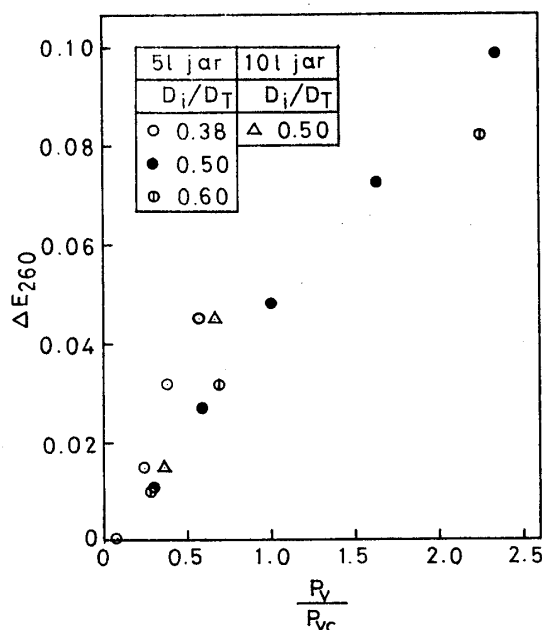


Fig. 7. Relation between  $\Delta E_{260}$  and relative power consumption per unit volume. (*R. javanicus*)

以上の結果より、 $\Delta E_{260}$  は、液の攪拌強度を示す一般的指標として用いられる攪拌羽根の先端速度と最も良い相関を示した。このことは、攪拌による菌糸に与える機械的衝撃は、攪拌羽根の先端速度に相関する剪断に由来するのではないかという Oldshue<sup>5)</sup> の推定を裏づける結果を示すと考えられる。しかしながら、 $\Delta E_{260}$  と攪拌羽根の先端速度との関係が、両菌株において同一直線を示さないことから、攪拌の衝撃に対する菌糸の影響度合が菌株により異なることがわかる。このことは、 $\Delta E_{260}$  が個々の菌株についての、攪拌による菌糸に与える衝撃の強さの相対的基準として使用できるが、現段階では糸状菌全体の共通の基準として使用できないことを意味している。

### $\Delta E_{260}$ と通気攪拌操作に関連する諸因子との関係

液内培養においては、通気速度、液の粘度および邪魔板の存在は、攪拌による菌糸に与える衝撃に影響すると考えられるので、この点について以下のような検討をおこなった。

#### (1) $\Delta E_{260}$ と通気速度との関係

これまでの攪拌実験では、通気をおこなわなかったが、 $\Delta E_{260}$  と通気速度との関係を *Rhizopus* 属菌糸についてジャーファーマンターを用いて検討し、Table 2 に結果を示した。通気をおこなっても、おこなわなくても、 $\Delta E_{260}$  の測定値には相違がほとんど認められなかった。このことから、通気によって、菌糸に対する

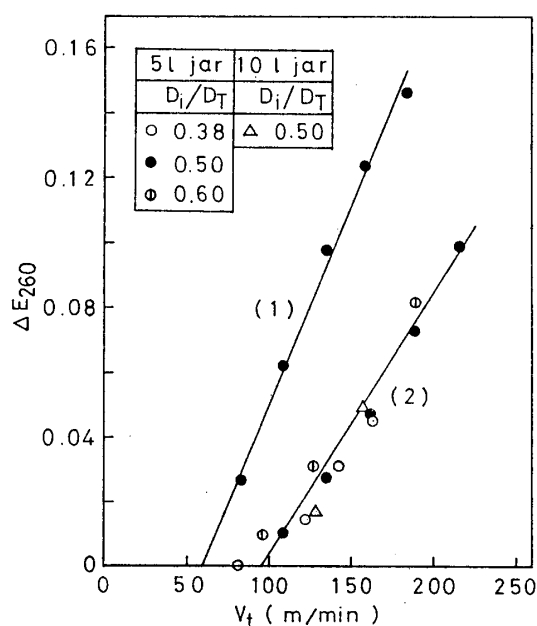


Fig. 8. Correlation between  $\Delta E_{260}$  and impeller tip velocity. (1) *M. javanicus*, (2) *R. javanicus*

Table 2. Effect of aeration on  $\Delta E_{260}$ .

| Air flow rate<br>(vvm) | $\Delta E_{260}$ |
|------------------------|------------------|
| 0                      | 0.045            |
| 1                      | 0.047            |
| 3                      | 0.049            |

(5 l jar fermenter,  $D_t/D_T=0.5$ , 600 rpm)

攪拌の衝撃にはほとんど影響が無いことがわかった。

(2)  $\Delta E_{260}$  と粘度との関係

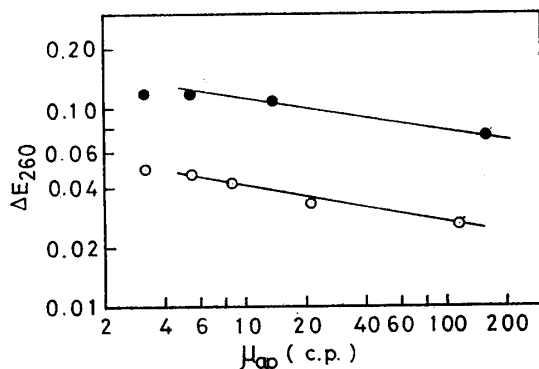
菌糸濃度を高めたとき、懸濁液の粘度が  $\Delta E_{260}$  にどのように影響するかを検討した。菌糸懸濁液の粘度は、菌糸濃度や菌糸形態の相違により非常に変る。<sup>6)</sup> この実験で用いた *Mucor* および *Rhizopus* 属の菌糸は、共にパルプ状菌糸であり、懸濁液の菌糸濃度を高めると液の粘度は増加した。種々の菌糸濃度の懸濁液を攪拌し、核酸関連物質の漏出速度を測定した。先述したように、これを 100 ml 当り乾燥重量 100 mg 濃度に換算し、 $\Delta E_{260}$  で表わした。測定した  $\Delta E_{260}$  と懸濁液の見掛け粘度 ( $\mu_{ap}$ ) との関係を Fig. 9 に示した。低粘度領域では、 $\Delta E_{260}$  はほとんど一定であるが、粘度の増加に伴い、徐々に減少する傾向が見られ、両者の関係は (3) 式で表わせる。

$$\Delta E_{260} = k_2 \mu_{ap}^{-\alpha} \quad (3)$$

ここで、 $k_2$  および  $\alpha$  は実験定数で、 $\alpha$  は両菌株ともほぼ等しく 0.18 であった。

(3)  $\Delta E_{260}$  と邪魔板の存在との関係

攪拌槽内の邪魔板数 ( $N_b$ ) が  $\Delta E_{260}$  にどのような影

Fig. 9. Effect of apparent viscosity of mycelial suspension on  $\Delta E_{260}$ .(5 l jar fermenter,  $D_t/D_T=0.5$ , 600 rpm)●—● *M. javanicus* ○—○ *R. javanicus*

響を与えるのかを (2) と同様両菌株を用いて検討した。その結果を Fig. 10 に示した。邪魔板の存在は明らかに  $\Delta E_{260}$  を増大させることがわかる。邪魔板 4 枚を設置した時、設置しない場合に比べ、 $\Delta E_{260}$  は約 2 倍の増加を示した。なお、邪魔板 4 枚を設置した攪拌槽を用いて、菌糸懸濁液を攪拌した時の、菌糸に与える衝撃を基準にした場合、 $\Delta E_{260}$  と邪魔板数との関係は次式で表わされる。

$$\Delta E_{260} = k_1(V_t - c_1) - k_3(4 - N_b) \quad (4)$$

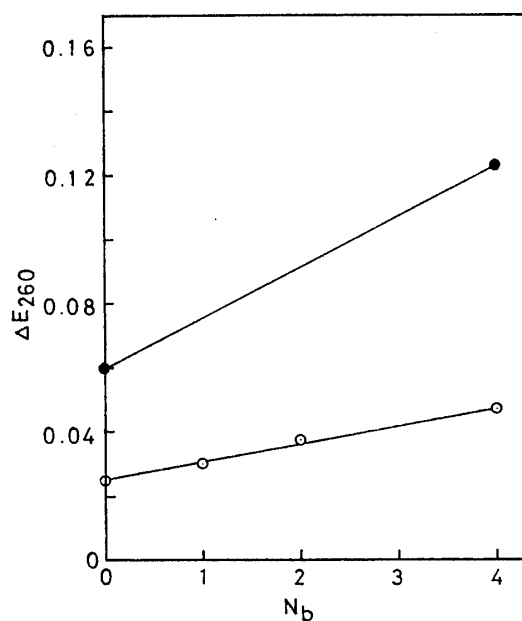
ここで、 $k_3$  は実験定数である。

従って、 $\Delta E_{260}$  と通気攪拌操作に関連する諸因子との関係は、(3), (4) 式より次式のようにあらわせる。

$$\Delta E_{260} = (k_4 V_t + k_5 N_b - K) / \mu_{ap}^{-0.18} \quad (5)$$

ここで、 $k_4$ ,  $k_5$  および  $K$  は実験定数である。

フラスコおよびジャーフェーマンターにおける  $\Delta E_{260}$  と  $k_L a$  との関係 糸状菌の振盪フラスコにおける培養結果を、ジャーフェーマンターの培養で再現しようとする場合、酸素供給面を考慮するだけでは、必ずしも成功するとは限らないことが知られている。<sup>7)</sup> また、同じ通気攪拌培養装置で、同一の酸素溶解速度係数 ( $K_a$ ) を与える培養条件でも、最適攪拌速度が存在する培養例<sup>8)</sup> も知られている。これらの問題はまだ十分に納得できる説明がなされていない。しか

Fig. 10. Relation between  $\Delta E_{260}$  and number of baffle plates.(5 l jar fermenter,  $D_t/D_T=0.5$ , 600 rpm)●—● *M. javanicus* ○—○ *R. javanicus*

し、両培養装置間では、それぞれ、液の流動状態が異なることから、酸素供給の側面からのみの検討には限度があるものと思われる。ここでは、菌糸に与える衝撃の影響を加えて考えるため、*Rhizopus javanicus* の菌糸を用いた場合の  $\Delta E_{260}$  を基準として、フラスコのジャーフェーマンター間の菌糸に与える衝撃の強さの相違について比較検討した。

#### (1) フラスコの攪拌条件と $\Delta E_{260}$ との関係

菌糸懸濁液を往復振盪機上のフラスコに入れて振盪したとき、振盪速度と  $\Delta E_{260}$  との関係を検討した結果を Fig. 11 に示した。振盪速度が増加するにつれて、 $\Delta E_{260}$  も増加し、毎分 110 往復以上の振盪速度では一定となった。また、エルレンマイヤーフラスコを、一定回転速度の回転式振盪培養機上で振盪した場合、フラスコを加工して作った内部の邪魔板数 ( $N_b$ ) と  $\Delta E_{260}$  との関係は Fig. 12 に示した。邪魔板数の増加に伴い、 $\Delta E_{260}$  も増加した。なお、邪魔板が存在しない場合、回転速度の如何にかかわらず、菌糸への影響は認められなかった。

#### (2) 振盪フラスコにおける $\Delta E_{260}$ と $k_L a$ との関係

培養上の立場から、往復式および回転式振盪フラスコにおける菌糸に与える衝撃の強さの相違を以下のように検討した。 $\Delta E_{260}$  と好気条件の基準である  $k_L a$  との関係をもとめるため、(1) で  $\Delta E_{260}$  測定に用いた振盪条件について、同様に  $k_L a$  の測定をおこなった。その結果を Fig. 13 に示した。この図から明らかなように、往復式および回転式振盪フラスコにおいて、菌糸に与える衝撃の強さと  $k_L a$  との間には、同一の直線関係があることが認められた。

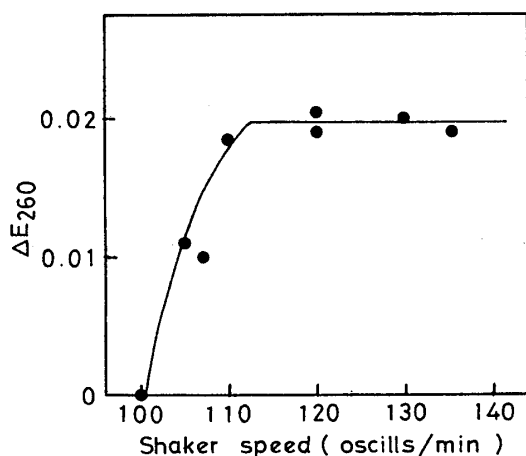


Fig. 11. Relation between  $\Delta E_{260}$  and reciprocal shaker speed.

#### (3) ジャーフェーマンターにおける $\Delta E_{260}$ と $k_L a$ との関係

5l および 10l ジャーフェーマンターにおいて、攪拌による  $\Delta E_{260}$  と  $k_L a$  との関係を検討した。通気量を 1vvm としたとき、Fig. 8 において  $\Delta E_{260}$  と攪拌羽

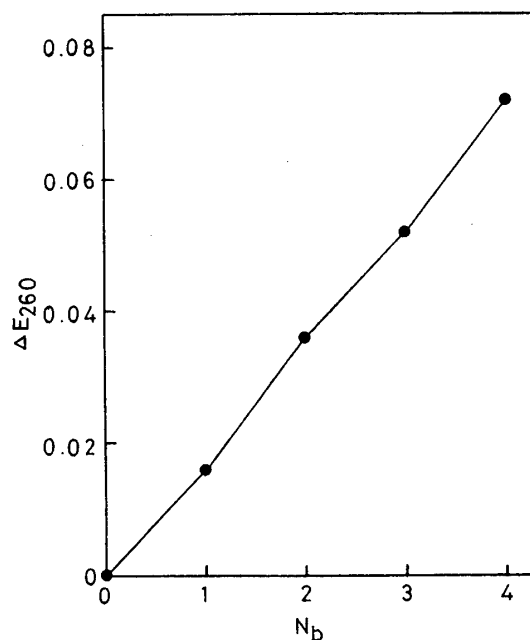


Fig. 12. Relation between  $\Delta E_{260}$  and number of baffle plates of rotary shaking flask.

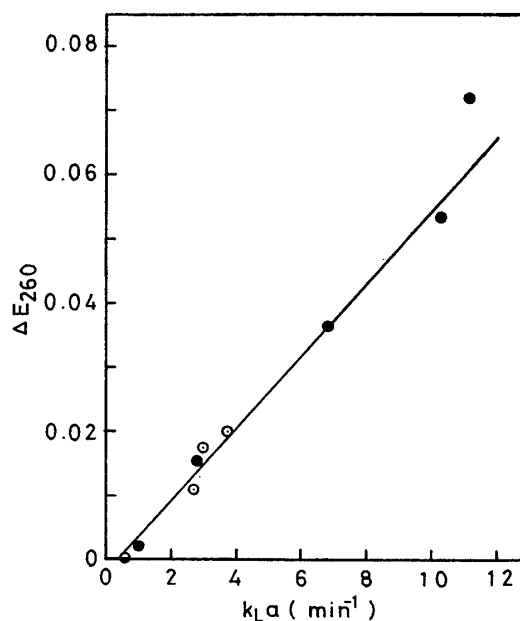


Fig. 13. Correlation between  $\Delta E_{260}$  and volumetric oxygen-transfer coefficient.

●—● shaking flask (reciprocal shaker)  
○—○ Erlenmyer flask (rotary shaker)

根先端速度との関係を求めた際の攪拌条件について、 $k_La$  の測定をおこなった。その結果を Fig. 14 に示した。 $\Delta E_{260}$  と  $k_La$  との関係は、攪拌羽根の径や、ジャーフェーマンターの大小とかかわりなく、おおよそ直線的な相関関係があることが認められた。ジャーを用いた実験では、フラスコと異なり、同じ攪拌速度でも、通気量の相違により  $k_La$  が変化する。そこで、1 例として 5 l ジャーフェーマンターで  $D_i/D_T=0.5$  の攪拌羽根を用い、通気量を 0~2 vvm に変えた場合の  $\Delta E_{260}$  と  $k_La$  との関係について検討をおこない、その結果を Fig. 14 に同時に示した。明らかに両者の関係は直線ではなく、斜線で示したような幅のある関係が得られた。また、 $k_La$  を一定に設定した場合について考えると、 $\Delta E_{260}$  は約 0.025 の幅があることから、通気条件と攪拌条件の種々の組合せにおいて、それぞれ、菌糸に与える衝撃の強さが異なることが明らかである。このことは、ジャーフェーマンターを用いる培養において、同一の  $k_La$  を考える酸素供給条件下でも、菌糸に与える衝撃の面から考えれば、培養にとって最適攪拌速度が存在することが推測される。

同一好氣的条件下におけるフラスコおよびジャーフェーマンター間の菌糸に与える衝撃の相違 Fig. 13 および Fig. 14 から、フラスコおよびジャーフェ

メンターにおける  $\Delta E_{260}$  と  $k_La$  の関係は、特にジャーフェーマンターの通気量が 1 vvm の場合に限れば、次のような式で表わせる。

$$\Delta E_{260} = a + b(k_La) \quad (5)$$

ここで、 $a, b$  は実験定数

フラスコでは、 $a = -1.0 \times 10^{-3}$ ,  $b = 4.8 \times 10^{-3}$ , ジャーフェーマンターでは、 $a = -1.6 \times 10^{-3}$ ,  $b = 1.6 \times 10^{-2}$  であり、両者の  $b$  の値は 3.3 倍相違した。一方通気量を変えた場合については、 $b$  の値はほとんど変わらなかった。従って、フラスコの場合と同じ  $k_La$  を得るようなジャーフェーマンターの通気攪拌では、ジャーフェーマンターの方が 2~3 倍程、菌糸に与える衝撃の強さが大きいことが、この実験結果から推定される。

以上のような結果は、*Rhizopus javanicus* の菌糸を用いて得られたものであり、この結果を全ての糸状菌の培養について適用できるとは考えられない。しかしながら、糸状菌の液内培養をフラスコからジャーフェーマンターへスケールアップする場合、培養系への酸素供給のための通気攪拌を考慮するにとどまらず、攪拌による菌糸に対する衝撃の影響も十分考慮しなければならないことを示唆するものと思われる。なお、このような両装置における衝撃の相違幅を少なくする方法として、種々のことが考えられる。例えば、往復振盪機上のフラスコの場合には、ガラス板を振盪方向と直角の向きに設置し、菌糸への衝撃の強さをジャーフェーマンターのように強める武部<sup>9)</sup>らの方法や、ジャーフェーマンターにおいて、通気効果を十分に高めたり、攪拌と通気によって必要な酸素供給が可能ならば、邪魔板数を減少させたりすることにより、菌糸への衝撃の強さをフラスコ程度まで弱めたりする方法などが考えられる。

菌糸に加えられる力の要素は、(1) 攪拌に伴う液の乱れ、(2) 攪拌羽根や邪魔板との直接接触の 2 つが考えられる。いずれの要素に由来するのかを直接的に明らかにするのは困難である。いま、直接接触に由来すると仮定した場合、接触部において、菌糸に与える力を増大させるならば、 $\Delta E_{260}$  の値を増大させることが出来るのではないかと考えた。そこで、攪拌羽根の先端部および側面部に、それぞれカミソリ刃を回転方向に取りつけて試験したが、共にカミソリ刃をつけない場合と、ほとんど等しい  $\Delta E_{260}$  を示し、また、切断菌糸も観察されなかった。邪魔板の先端部に、カミソリ刃を回転方向とは逆方向に取り付けた場合においても

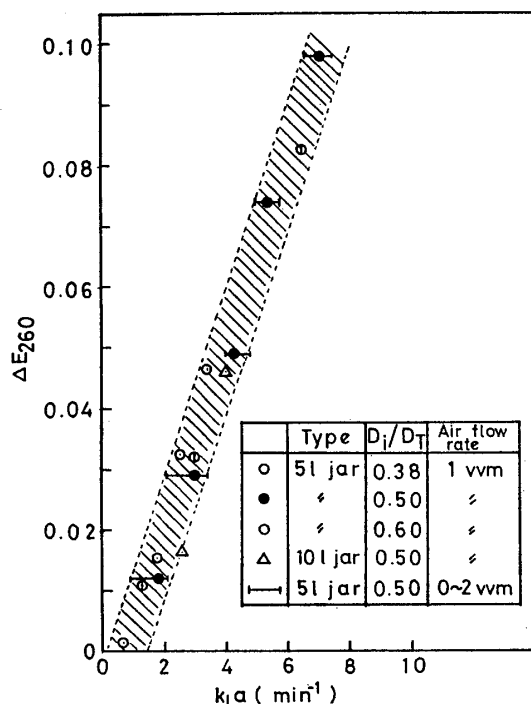


Fig. 14. Correlation between  $\Delta E_{260}$  and volumetric oxygen-transfer coefficient.

同様の結果であった。さらに、ホモジナイザーの刃を攪拌羽根の代りに取り付けた場合、回転数 700 rpm においても菌糸の切断は認められなかった。このような結果から、水とはほぼ等しい比重を持つ菌糸では、この程度の回転数において、流動状態における水と菌糸間で相対速度差がほとんどないのではないかと考えられる。従って、攪拌による菌糸から核酸関連物質の漏出は、主に、攪拌による液の流動時の剪断に由来するのであると推定した。

なお、攪拌による菌糸からの核酸関連物質の漏出は、菌糸の切断によるものではないことは明らかであるが、細胞の表層の損傷が生ずるかどうかは、今後の研究に待たねばならない。

### 要 約

*Mucor* および *Rhizopus* 属の両菌糸の懸濁液を、攪拌装置内で同一条件で攪拌すると、量は異なるが、いずれにおいても、前報で明らかにしたような菌糸内ヌクレオチド類が漏出した。

一定攪拌条件下におけるヌクレオチドの漏出量は、両菌株共に時間に比例して増大し、その漏出速度は、攪拌条件により変化した。本研究では、菌糸懸濁液を攪拌したとき、攪拌による菌糸に与える衝撃の強さを、菌糸内核酸関連物質の漏出速度と定義し、特に菌糸濃度が 100 mg/100 ml の場合に  $\Delta E_{260}$  で表現した。

両菌株それぞれについて、 $\Delta E_{260}$  と変形レイノルズ数、単位液量当りの所要動力、攪拌羽根の先端速度との関係を検討したところ、攪拌羽根の先端速度と最も

良い相関を示した。また、通気攪拌に関連する諸因子のうち、特に、攪拌装置内の邪魔板数と液の粘度が  $\Delta E_{260}$  に影響を与えることがわかった。

*Rhizopus javanicus* 菌糸懸濁液を入れたフラスコを、往復および回転式振盪機上で振盪し、種々の振盪条件下の  $\Delta E_{260}$  を測定した。ジャーフェーマンターとフラスコにおいて、菌糸に与える衝撃の影響の強さの相違を、同一好氣的条件下で比較検討した。菌糸に与える衝撃の強さは、ジャーフェーマンターの方が 2~3 倍大きいことが明らかとなった。又、同じジャーフェーマンターにおいて、同一の  $k_{La}$  を与える通気と攪拌条件の組合せにより、菌糸に与える衝撃の強さがかなり異なることが明らかとなった。

### 文 献

- 1) 田中, 宮川, 上田: 醸工, **52**, 646 (1974).
- 2) 田中, 宮川, 上田: 醸工, **52**, 652 (1974).
- 3) 佐藤: 醸工, **39**, 347 (1961).
- 4) 吉田, 山口, 服部: 醸工, **46**, 1019 (1968).
- 5) Oldashu, J.Y.: *I.E.C.*, **52**, 60 (1960).
- 6) 高橋, 山田: 農化, **34**, 100 (1960).
- 7) 池野, 坂本, 尾崎: 農化, **29**, 635 (1955).
- 8) Barthromew, W.H., Karow, E.O., Sfat, M.R., Wilhelm, R.H.: *I.E.C.* **42**, 1810 (1950).
- 9) 武部, 高橋, 上田: 醸工, **49**, 989 (1971).

(昭49. 6. 24受付)