

[J. Ferment. Technol., Vol. 53, No. 3, p. 151~158, 1975]

プロテアーゼ, ペニシリン生産における 初発通気攪拌条件の影響

武井 宏介・水沢 清・吉田 文彦

キッコーマン醤油株式会社 中央研究所

Effect of Initial Aeration and Agitation Conditions on Production of Protease and Penicillin

Hirosuke Takei, Kiyoshi Mizusawa, and Fumihiko Yoshida

Central Research Institute of Kikkoman Shoyu Company, Ltd., Noda-shi, Chiba

The over-all volumetric oxygen transfer coefficient based on the gas phase, K_Ga and power requirement for agitation per unit volume of liquid in non-viable system, P_g were taken as typical values of the initial oxygen supply rate and agitation intensity. When these values were expressed as functions of operating variables, a relationship between fermentation product and agitation intensity could be derived using the oxygen transfer rate as a parameter. The present paper deals with the experimental method. In the case of thermostable protease production by *Streptomyces rectus* var. *proteolyticus*, the maximum protease activity in fermentation was expressed as a function of K_Ga , and was not affected by the power requirement for agitation (P_g) under conditions of constant K_Ga . These results can be ascribed to the fact that this microorganism grows from the early phase of protease production as a mycellial pellet, which is not affected by agitation intensity. The penicillin production by a mutant strain of *Penicillium chrysogenum* was greatly influenced by both K_Ga and P_g . The original data were quoted from Bartholomew *et al.*, and analyzed according to this method. As K_Ga value became smaller, a more profound effect of P_g was observed.

緒 論

回分操作の発酵生産における通気攪拌培養のスケール・アップには、従来各種の方法が用いられているが、とくに *Penicillium* 属カビあるいは *Streptomyces* 属放線菌などを用いた場合には酸素供給のみならず、菌体に作用する攪拌力の影響が問題になる場合が多い。^{2~4)} 一方、攪拌力は通気量とともに酸素移動速度の関数になるので、それぞれの発酵生産におよぼす影響を明確に求めることが困難であり、また培養中の攪拌力は酸素移動速度とともに発酵液の物性が変化するために時間の関数となり、そのためスケール・アップを益々困

難にしている現状である。

そこで、著者らは発酵生産におよぼす攪拌力および酸素移動速度に関する初発条件の影響を明らかにし、生産物生成の最大値が得られる操作条件を実験的に求める方法について検討し、これを *Streptomyces* 属放線菌の生産するプロテアーゼおよび Bartholomew らによる *Penicillium* 属カビの生産するペニシリン¹⁾ に適用した結果、さらにこれをスケール・アップに応用する場合について考察した結果を報告する。

通気攪拌条件の生産に対する効果の検討方法

一般に、回分の通気攪拌培養におけるスケール・ア

アップは多くの場合、気相から液相への酸素供給速度が生産物生成量とよく相関することから、スケール・アップの尺度として用いられている。酸素供給速度をスケール・アップの尺度とすることにより、従来酵母、バクテリアなどの増殖では、発酵槽の大きさに関係なく生産物生成量は酸素供給速度の関数としてあらわすことが多いが、⁵⁾ *Penicillium* 属カビ、*Streptomyces* 属放線菌などが生産する生産物では酸素供給速度のほかに他の因子が関数になることが指摘されている。²⁻⁴⁾ 酸素供給速度だけでは不十分な理由として、亜硫酸ソーダ法など通常の酸素供給速度として菌体の存在しない気液系の化学反応吸収あるいは物理吸収の値を尺度としていること、菌体におよぼす攪拌力の影響を考慮していないこと、微生物反応が必ずしも反応律速の状態で行なわれていないことその他が考えられる。これらの原因のうち、菌体に作用する攪拌力の影響を最大と考えて他の原因を無視すれば、発酵生産に影響をおよぼす因子としては酸素供給速度および菌体に作用する攪拌力となる。ここで、菌体に作用する攪拌力と菌体が受ける剪断作用については、従来 Maxon,⁶⁾ Steel⁷⁾ らによって研究が進められ、また、攪拌槽内の液の乱れと攪拌翼の作用については Rushton ら^{8,9)} の理論的な検討がなされているが、現時点では培養系における攪拌効果をどのような尺度で表わすかは重要な問題となっている。

そこで、菌体に作用する攪拌力は一定の操作条件下の発酵では物性が変化するために時間の関数となり、かつ槽内においては局部的に乱れの程度が著しく異なるのでそれを代表するものとして、菌体の存在しない系の単位容積あたりの通気時の攪拌動力 P_g を採用する。また、酸素供給速度として従来通り菌体の存在しない気液系の値をとり、さらに空気を用いた場合の酸素供給速度は近似的に総括物質移動容量係数に比例することから、圧力基準の総括容量係数 K_Ga を代表値にとれば、無生物系での初発条件 K_Ga , P_g と発酵生産物 R の関係は (1) 式であらわされる。

$$R=f_1(K_Ga, P_g) \quad (1)$$

(1) 式によって K_Ga , P_g それぞれの影響を実験的に求める場合、操作変数としての回転数および通気線速度を決定する必要があるため、次のような検討を加えた。

無生物系での初発条件となる酸素供給速度および攪拌動力の発酵生産におよぼすそれぞれの影響を実験的に求める場合の操作変数の回転数および通気線速度の設定について、 K_Ga は Cooper ら¹⁰⁾ の関係を用い

ば (2) 式であらわされる。

$$K_Ga=f_2(P_g, V_s) \quad (2)$$

ここで、 V_s は通気線速度である、 P_g は大山らの関係¹¹⁾ を用いれば (3) 式であらわされる。

$$P_g/P=f_3(N_A) \quad (3)$$

ここで、 P は無通気のときの単位容積あたりの攪拌動力、 N_A は通気数である。いま、 K_Ga の実験範囲を設定し、これをパラメーターにして発酵生産物と P_g との関係を求める場合、 V_s は容易に決定されるが、回転数 n は (2), (3) の両式を満足するよう決定する必要がある。しかし、 $P \sim n$, $P_g \sim n$ それぞれの関数形が複雑であるか不明な場合、直ちに回転数 n を求めることが出来ず、試行錯誤法になる。 K_Ga の実験範囲の設定および (2), (3) 式を前提にした回転数の決定方法は次の通りである。

a) 酸素供給速度の範囲、すなわち K_Ga の実験範囲を設定する。この場合、菌体増殖における酸素要求速度を求め、これを基準にして K_Ga の実験範囲を設定する。

b) つぎに、 K_Ga をパラメーターにして (1) 式の R と P_g との関係を求める場合の操作変数を Fig. 1 の方法によって決定する。すなわち、a) により設定された K_Ga のある値について、 P_g の値を与えれば (2) 式から V_s がえられその値より通気量 Q が計算される。ここで、 P を仮定すれば、 P_g とから (3) 式の関係によって N_A が求まる。 V_s と N_A とから n がえられる。さらに、 n , 羽根径、液の動粘度から攪拌レイノルズ数 Re が決定される。ついで、 $P_N \sim Re$ の関係から P_N が求まり、さきにえられた n , 羽根径、液密度から P がえられる。この P が最初与えた P に等しくなるように P を試行錯誤によって求めれば、この P に対応する n が求める回転数である。

c) 設定された操作変数を用いて発酵実験を行ない、(1) 式の関係を求める。

いま、Fig. 2 のように K_Ga をパラメーターとして

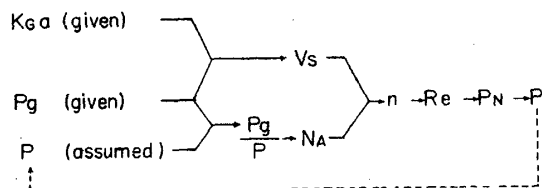


Fig. 1. Procedure for determination of operating conditions.

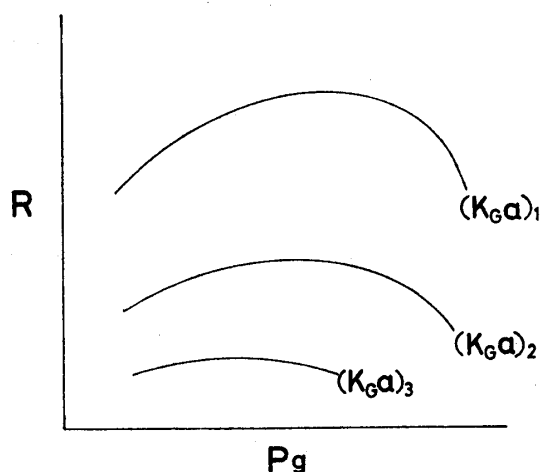


Fig. 2. Effect of P_g on fermentation productivity R with different values of K_{Ga} .

R と P_g との関係があらわれたとすれば, 攪拌力の発酵生産におよぼす影響があることを示す。一方, $(K_{Ga})_1$, $(K_{Ga})_2$, $(K_{Ga})_3$ の曲線が直線になれば攪拌力の影響がないことを示す。なお, P_g をパラメーターにした場合も同様に求めることが出来る。

スケール・アップについて, 発酵槽容積の異なる各槽について Fig. 2 の関係を求める実験を行ない, それぞれについて最大の発酵生産物を与える K_{Ga} および P_g を求めた結果がそれぞれが発酵槽容積の関数になったとすれば, この場合スケール因子が存在する。したがって, スケール・アップした場合の操作変数の設定は外挿によらなければならない。外挿にさいしては, 発酵槽容積と発酵生産物が最大になる K_{Ga} あるいは P_g とのそれぞれの関係から行なうことになるが, スケール・アップの実験における発酵槽容積の設定は外挿可能となるように決定しなければならない。一方, 最大の発酵生産物がえられる K_{Ga} および P_g が発酵槽容積に関係なくある一定値をとれば, スケール因子がなく, スケール・アップはきわめて容易となる。

発酵生産物と操作変数との相関関係

発酵生産物におよぼす攪拌力の影響が存在すると考えられる *Streptomyces* 属放線菌および *Penicillium* 属カビなどについてそれぞれ発酵生産物と操作変数との相関関係を求めた。放線菌については, 前述の方法によってプロテアーゼ生産における操作変数の設定を行ない, これに基づいて実験を行なった。 *Penicillium* 属カビについては, ペニシリン生産に関する Bartholomew ら¹⁾ の実験結果を前述の方法によって整理を行なった。

Table 1. Composition of culture media.

	Seed medium (wt %)	Basal medium (wt %)
Corn starch	2.0	2.0
Defatted soybean powder	1.2	1.2
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.05	0.05
KH ₂ PO ₄	0.04	
K ₂ HPO ₄	0.4	0.4
Antifoam	0.2 vol%	0.2 vol%
Initial pH	7.3~7.4	7.5

Seed cultivation was carried out for 28 hr at 45°C and fermentation was performed for 24 hr at 50°C.

Table 2. Dimensions of Fermenters.

	30 litre	200 litre
H/D	1.91	1.98
H_i/D	1.17	0.79
D_i/D	0.5	0.5
W_b/D	0.12	0.11
h_u/D	0.76	
h_l/D	0.26	0.27
h_n/D	0.11	0.13
N_b	3	4
N_u	4	
N_l	6	6

$D=28.4$ cm

$D=55$ cm

放線菌によるプロテアーゼ生産

1) 供試菌株および培地組成: 水沢ら^{12,13)} が分離した耐熱性プロテアーゼ生産菌, *Streptomyces rectus* var. *proteolyticus* を用いた。なお, 保存培地としては Bennet agar 改変培地¹⁴⁾ を用いた。本培養および種菌の培地組成を Table. 1 に示す。

2) 実験装置および方法: 実験装置として全容 30 l (仕込量 20 l), ディスク・タービン型攪拌羽根 2 段つきの発酵槽および全容 200 l (仕込量 100 l), ディスク・タービン型攪拌羽根 1 段つきの発酵槽を用いた。両槽の幾何学的形状を Table 2 に示す。

培地の殺菌は第一リン酸カリウムおよび第二リン酸カリウムの混合液と他の組成の液とを分別殺菌して冷却したのち, 両者を混合した。なお, 後者の殺菌条件は 120°C, 40 分であった。種菌の調整は, 2 本のスラントから 20 ml の孢子懸濁液をとり, これを全容 30 l

の発酵槽に接種して45°C, 28時間培養して種菌とした。本培養は、調整した種菌を全仕込量の5%接種し、50°C, 24時間通気攪拌発酵を行なった。なお、発酵槽内気相部の圧力は両者とも0.6 hg/cm² ゲージ圧とした。酵素活性測定法は、発酵槽から採取した試料を氷水中で直ちに冷却したのち遠心分離し、その上澄液について野本ら¹⁵⁾の方法によりカゼインを基質としてpH, 8.0 (M/15 Phosphate buffer), 30°C, で、10 min 反応させ、Folin 比色法で測定してプロテアーゼの活性を求めた。酵素活性の測定にあたってはすべて培養液上澄液を20倍に希釈して反応を行ない、660 nm における光学密度 OD₆₆₀ としてあらわした。気相基準の酸素移動総括容量係数 K_Ga は、Cooper ら¹⁰⁾の亜硫酸ソーダ法により、50°C, 常圧で測定した。なお、空気流量測定はオリフィス板を用いた。攪拌所要動力は、全容30 lの発酵槽については亜硫酸ソーダ溶液～空気系の動力をストレイン・ゲージ（総合計装株式会社）を用いて測定した。

3) 発酵槽攪拌動力：全容30 lの発酵槽について、槽径基準の線速度 V_s を0.13～2.63 cm/sec の範囲で変化させ、無通気時および通気時のそれぞれの攪拌動力 P および P_g を測定した。実測値は(3)式に示す大山ら¹¹⁾の方法によって $P_g/P \sim N_A (=Q/nD_i^3)$ の関係にまとめた。その結果を Fig. 3 に示す。Fig. 3 から、 P_g/P は $N_A=0 \sim 0.04$ の範囲で急激に減少し、 $N_A > 0.04$ ではほぼ一定値を示している。なお、無通気時の P_N は、実験範囲のすべて ($1 \times 10^5 < R_s < 3 \times 10^5$) において5.5の一定値を示した。

4) 気相基準の酸素移動総括容量係数：全容30 lの発酵槽について、槽径基準の線速度 V_s を0.26～0.66 cm/sec の範囲、攪拌動力 P_g を1～5 HP/m³ の範囲で変

化させて気相基準の酸素移動総括容量係数 K_Ga を測定した。実測値を(2)式によって整理し、その結果を Fig. 4 に示す。Fig. 4 から(4)式がえられる。

$$K_Ga = 0.34 \times 10^{-6} P_g^{0.24} V_s^{1.75} (P_g)^{-0.98} \quad (4)$$

ただし、 $0.26 < V_s < 0.66$ cm/sec, $1 < P_g < 5$ HP/m³。

5) 発酵実験における操作変数の設定：前述の操作変数設定に関する検討結果により、通気時の攪拌動力に関する Fig. 3, 容量係数に関する(4)式を用い、容量係数をパラメーターにして求めた操作変数の回転数 n および通気の線速度 V_s を Table 3 に示す。なお、

Table 3. Operating conditions of aeration and agitation in 30 litre fermenter.

$K_Ga \times 10^8$ (g mol/ml·atm·sec)	P_g (HP/m ³)	V_s (cm/sec)	n (rpm)
5	1.10	0.13	242
	0.70	0.66	210
	0.58	1.32	212
10	2.15	0.13	290
	1.70	0.26	280
	0.86	1.32	257
15	2.32	0.26	310
	1.06	0.66	277
	1.20	1.32	296
20	3.05	0.26	340
	1.55	0.66	305
30	4.87	0.26	410
	2.45	0.66	360

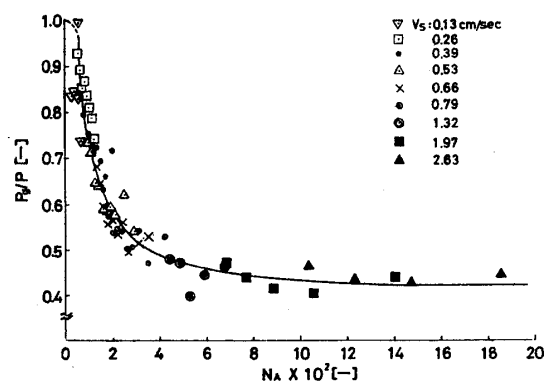


Fig. 3. Power requirement for agitation in sodium sulfite solution-air system in a 30 litre jar fermenter.

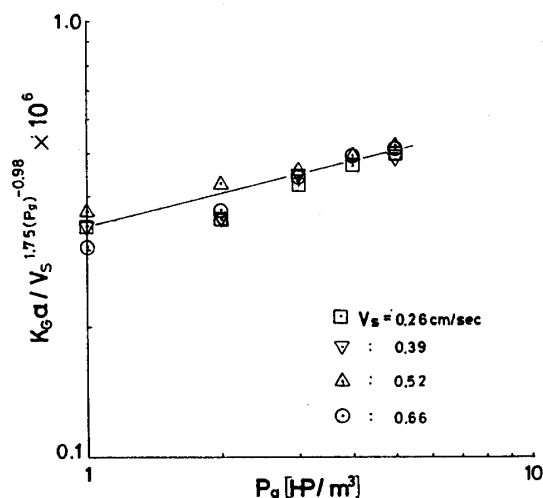


Fig. 4. Oxygen supply characteristics of 30 litre jar fermenter.

Table 3 において P_g , V_s が(4)式の適用範囲外の値をとる場合は、それぞれ実測値を用いた。

6) 発酵生産物と P_g および K_{Ga} との相関関係：Table 3 の操作変数により、全容 30 l の発酵槽を用いて発酵実験を行なった。発酵経過に関し、菌体については接種後 4~8 hr においてペレットを形成した。ペレットの大きさは攪拌動力 P_g の増大にともなって小さくなる傾向にあった。 P_g が 1.46 (HP/m³), K_{Ga} が 20×10^{-8} (g mol/ml·atm·sec) の操作条件における 12 hr 後のペレットの形態を Fig. 5 に示す。プロテアーゼ生産については、その生産の時間おくれはペレット形成までの時間と一致し、培養開始後 20~24 hr 後に最大活性が得られた。

K_{Ga} をパラメーターにした場合のそれぞれの発酵に

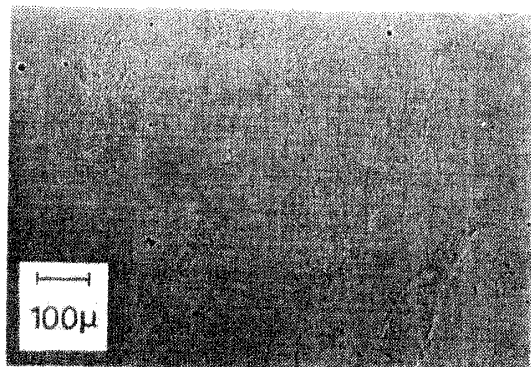


Fig. 5. Pellets after 12 hour growth in 30 litre fermenter. ($P_g = 1.46$ HP/m³)

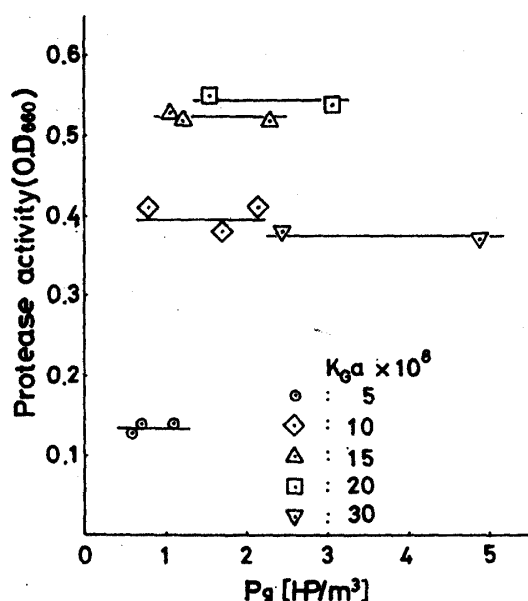


Fig. 6. Effect of P_g on protease activity in 30 litre fermenter.

おけるプロテアーゼ生産の最大活性と攪拌動力 P_g との関係を Fig. 6 に示す。Fig. 6 から、Table 3 の操作条件の範囲では攪拌動力のプロテアーゼ生産におよぼす影響はないと考えられ、かつ K_{Ga} の増大により最大活性は増加するが、 $(15 \sim 20) \times 10^{-8}$ g·mol/ml·atm·sec の値近辺で最大値に達し、さらに K_{Ga} が増加するに従って最大活性が低下している。したがってプロテアーゼ生産は K_{Ga} のみの関数となり、Fig. 6 からこの関係を求めた結果を Fig. 7 に示す。全容 200 l の発酵槽についても $10 \times 10^{-8} < K_{Ga} < 25 \times 10^{-8}$ (g·mol/mol·atm·sec) $0.92 < P_g < 2.7$ HP/m³ の範囲で実験を行ない、その結果を Fig. 7 に示した。Fig. 7 から全容 200 l の最大酵素活性~ K_{Ga} の関係は、全容 30 l のそれとはほぼ一致し、プロテアーゼ生産には攪拌力は影響せず、最大酵素活性は K_{Ga} のみによってきまることが示している。

Penicillium 属カビによるペニシリン生産

放線菌によるプロテアーゼ生産が K_{Ga} のみの関数となったが攪拌力の影響の強いと想像される *Penicillium chrysogenum* の変異株による全容 5 l (仕込量 3.2 l) の発酵槽を用いたペニシリン生産についての既往の研究¹⁾ について放線菌の場合と同様の検討を行なった。

1) 発酵槽攪拌動力：水、コーン・ステープリカー培地および大豆ミール培地をそれぞれ用いた場合の P_g と n および V_s との関係をあらたに整理した結果を Fig. 8 に示す。Fig. 8 から(5)式がえられる。

$$P_g = 1.9 \times 10^{-8} n^{3.0} V_s^{-0.13} \quad (5)$$

ただし、 $0.53 < P_g < 3.97$ HP/m³, $0.02 < V_s < 0.61$ cm/sec

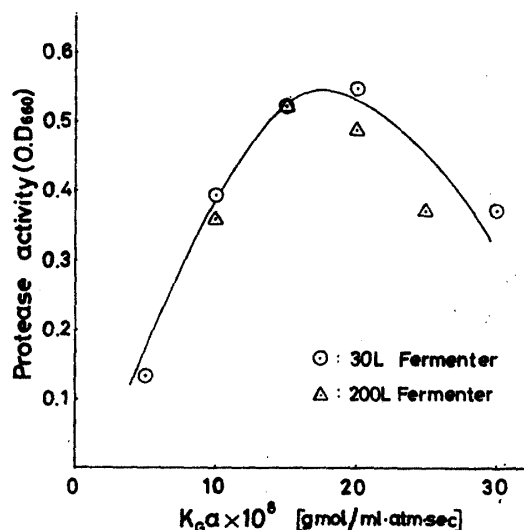


Fig. 7. Effect of K_{Ga} on protease activity in 30 litre and 200 litre fermenter.

2) 気相基準の酸素移動総括容量係数：菌体の存在しない培地について、ポーログラフ法による物理吸収における K_{Ga} と操作変数の n および V_s との関係を求めた結果を Fig. 9 に示す。Fig. 9 から(6)式がえられる。

$$K_{Ga} = 1.5 \times 10^{-12} n^{1.6} V_s^{0.44} \quad (6)$$

ただし、 $250 < n < 561$ rpm, $0.02 < V_s < 0.61$ cm/sec

3) 発酵実験における操作変数の設定：攪拌動力および容量係数がそれぞれ(5), (6)式のように操作変数の関数として与えられているので、操作変数の設定は

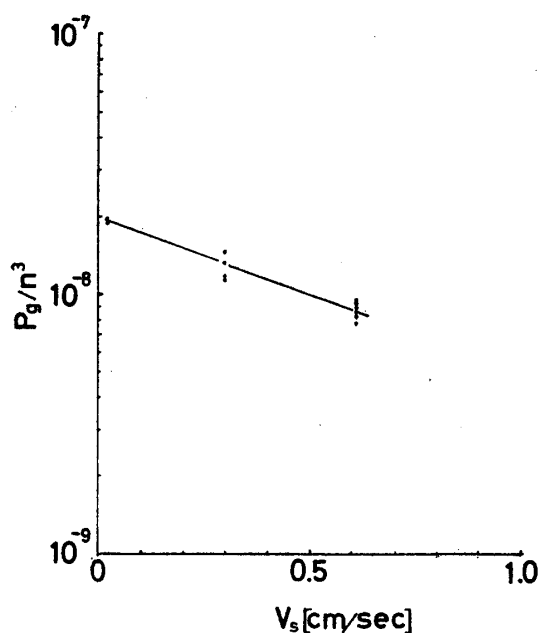


Fig. 8. P_g/n^3 vs. V_s in water, corn steep liquor, and soybean meal medium-air systems. (see Eq. of (5))

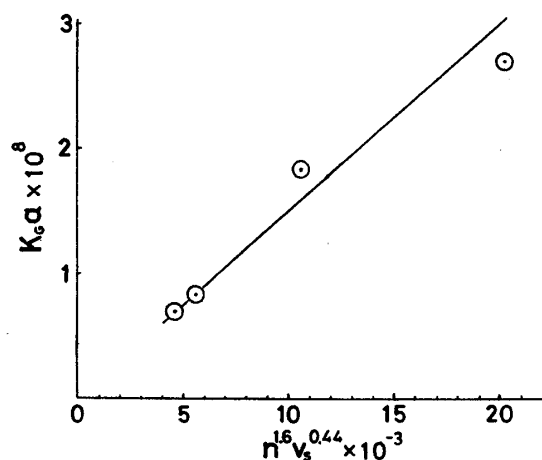


Fig. 9. K_{Ga} vs. $n^{1.6} V_s^{0.44}$ in corn steep liquor. (see Eq. of (6))

K_{Ga} determined by an amperometric method.

Fig. 1 に示すような試行錯誤法による必要はなく、計算により求めることが出来る。(5), (6)式から(7)式が得られる。

$$K_{Ga} = 1.98 \times 10^{-8} (P_g/e^{-0.13V_s})^{0.53} V_s^{0.44} \quad (7)$$

(7)式を用い、 K_{Ga} をパラメーターにとって P_g の各値における V_s のそれぞれの値を求め、 V_s の各値に対応する回転数を(5)式または(6)式によって計算すれば操作変数 n および V_s の設定が出来る。

4) 発酵生産物と P_g および K_{Ga} との相関関係：

(5)式あるいは(6)式と(7)式とから操作変数の設定を行ない、回転数および通気の線速度が実験範囲内におさまるよう K_{Ga} および P_g を設定した。一方、ペニシリン生産量の相対値 R と P_g および V_s との関係は(8)式であらわされる。この関係を Fig. 10 に示す。

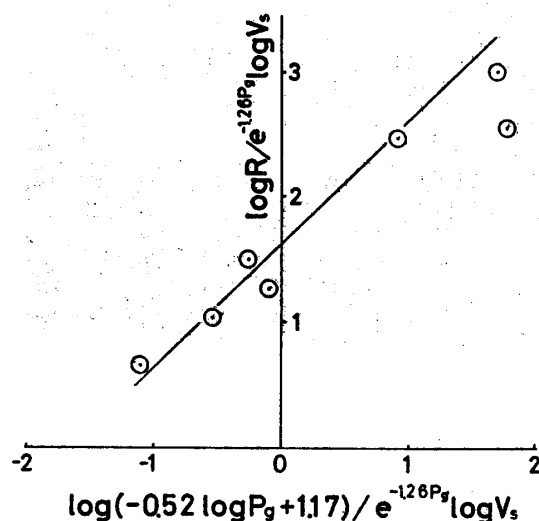


Fig. 10. $\log R/e^{-1.26P_g} \log V_s$ vs. $\log (-0.52 \log P_g + 1.17)/e^{-1.26P_g} \log V_s$ in penicillin production.

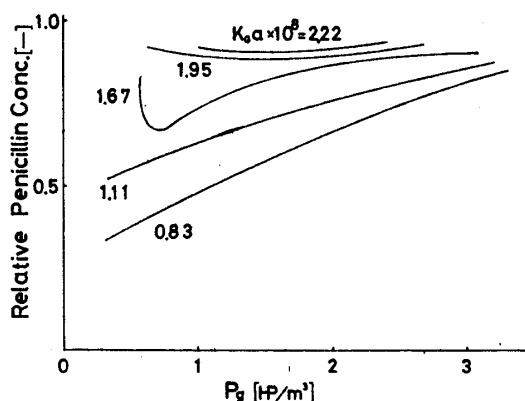


Fig. 11. Effect of P_g on relative penicillin productivity as a function of K_{Ga} .

$$\log R = \log (-0.52 \log P_g + 1.17) + 1.64 e^{-1.26 P_g} \log V_s \quad (8)$$

(8)式と K_{Ga} および P_g とから K_{Ga} をパラメーターにとった場合のペニシリン生産量 R と P_g との関係求めた結果を Fig. 11 に示す. Fig. 11 から, ペニシリン生産においては K_{Ga} のみならず P_g も影響し, K_{Ga} の値の小さい方がとくに P_g の影響が顕著である. K_{Ga} が大きくなるにしたがって P_g の影響は小さくなり, K_{Ga} の値が 2.22×10^{-8} (g·mol/ml·atm·sec) ではほとんど P_g の影響はない.

考 察

Streptomyces 属放線菌, *Penicillium* 属カビのような繊維状の形態を有する微生物の通気攪拌発酵においては, 発酵生産物は酸素供給速度の関数としてあらわすことが出来ない場合の多いことが指摘されている. したがって, 放線菌を用いた本実験のプロテアーゼ生産については酸素供給速度以外の因子の影響が考えられるが, その因子として攪拌動力をとり無生物系の初発条件 P_g , K_{Ga} とプロテアーゼ生産の関係を求めたところ, 全容 30l の発酵槽のよる Fig. 6 の結果から攪拌力の影響はなく, Fig. 7 のようにプロテアーゼ生産は酸素供給速度だけの関数となった. また, 酵母の増殖における菌体収量は酸素供給速度だけの関数になることが知られている.⁵⁾ 酵母の形状の多くは回転随円体あるいは球体であり, しかも 5μm 前後の大きさのため攪拌力の影響を受けにくい結果となっていると考えられる. 本実験の放線菌の場合では, その形態が繊維状であるため, そのままの形状では酵母の場合とちがって攪拌力の影響を受けやすいと考えられる. しかし, 本実験では放線菌が発酵開始後 4~8 hr の早い時期に数 10μ 径のペレットを形成するため, 酵母の大きさよりかなり大きいにしても, 攪拌力の影響を受けにくい形態になり, その結果プロテアーゼ生産は酸素供給速度だけの関数になったと考えられる. ついで, 幾何学的形状が全容 30l の槽とは異なる全容 200l の発酵槽を用い, プロテアーゼ生産と酸素供給速度との関係を求めた結果, 全容 30l の発酵槽の場合とほぼ等しい結果を得た. 槽容積および幾何学的形状が異なる 2 種の発酵槽を用いた実験結果がほぼ等しいことから攪拌力の影響がなく, かつ酸素供給速度を尺度とすることによってスケール・アップを行なうことが出来ると考えられる. なお, 総括容量係数が 20×10^{-8} (g·mol/ml·atm·sec) より大きい場合生産物生成量が低下している. これは, 発

酵が高温でかつ酸素が十分存在するために, 菌体が自己消化をおこすことに起因すると考えられる.

Penicillium chrysogenum の変異株を用いた既往の実験のペニシリン生成量は, Fig. 11 から酸素供給速度のみならず攪拌力の関数となり, (1)式にしたがうことは明らかである. ペニシリン生産におよぼす無生物系での初発条件である酸素供給速度および攪拌力の影響について, パラメーターにとった酸素供給速度が低いほど攪拌力の影響は大であり, 酸素供給速度が 2.22×10^{-8} (g·mol/ml·atm·sec) の値ではほとんど攪拌力は関係しない. また, 酸素供給速度および攪拌力ともに大なる場合にペニシリン生成量が多くなっている. なお, この場合の最適操作変数の設定については攪拌動力のほか通気に要する動力を含めた全所要動力が最小になり, かつ安定操作ができるように選択しなければならない.

スケール・アップについて, 生産物生成が酸素供給速度だけの関数になるプロテアーゼ生産のような場合はスケール・アップは比較的容易である. しかし, ペニシリン生産のように酸素供給速度および攪拌力両者の関数になる場合は複雑になる. この場合, Fig. 11 のような (1) 式の関係が槽容積によって変化するかどうか検討する必要がある. スケール効果がない場合, 安定操作ができる条件で Fig. 11 のような関係から P_g および K_{Ga} の組合わせを選定し, 各組合わせについて全所要動力を計算し, その値が最小になるような組合わせを選んで回転数および通気の線速度を決定する. スケール効果のある場合, 少なくとも容積の異なる 3 種の発酵槽それぞれについて, スケール効果のない場合と同様にして実験的に回転数および通気の線速度を決定する. ついで, 槽容積とそれぞれの操作変数との関係を求め, これらの関係を用い, 所定の槽容積の大きさまで外挿して回転数および通気の線速度を求める. 一方, K_{Ga} および P_g も同様にして求め, これらがさきに求めた回転数および通気の線速度と (2) 式あるいは (3) 式の関係にあるように決定する. このようにして得られた回転数および通気の線速度が求める値である. なお, 本報告では攪拌と酸素供給に関する初発条件が発酵生産物に与える影響を実験的に検討したが, 実際の培養系では攪拌力が菌体に作用する効果は酸素供給と関連して培養中に変化するものであり, したがって攪拌の効果を明確にするためには今後一層の研究発展が望まれる.

要 約

発酵生産におよぼす攪拌力の影響を明らかにするため、酸素供給速度をパラメーターにして生産物生成量と攪拌力との関係を求める方法について検討を行なった。その結果、酸素供給速度の代表値として無生物系での初発条件である気相基準酸素移動総括容量係数 K_Ga を、また、攪拌力の代表値として単位容積あたりの攪拌動力 P_g をそれぞれとり、これらがそれぞれ操作変数の関数としてその関数形が与えられていれば実験的に生産物生成量と攪拌力との関係を求めることが出来る。放線菌のプロテアーゼ生産についてこれらの初発条件の影響を実験的に検討した結果、攪拌力の影響はなく、生成量は K_Ga だけの関数になった。これは比較的初期からのペレット生成に起因しているものと推察された。

さらに、*Penicillium chrysogenum* の変異株によるペニシリン生産に関する既往の報告について同様にして検討した結果、 K_Ga および P_g の影響が顕著にあらわれ、パラメーターにとった K_Ga の小さい程 P_g の影響が大であった。攪拌力の発酵生産におよぼす影響のある場合のスケール・アップについても考察を行なった。

本稿終丁にあたり、終始御指導をいただいた東京教育大学農学部小林次郎教授に厚くお礼申し上げます。また 培養を担当していただいた本研究所伊東佐武郎氏に謝意を表します。なお、本研究は昭和48年度日本発酵工学会大会にその一部を発表した。

記 号

D = 槽直径 [cm]
 D_t = 攪拌羽根径 [cm]
 g_c = 重力換算係数 [kg·m/kg·sec²]
 H = 槽高さ [cm]
 H_l = 液深 [cm]
 h_u = 槽底から上段攪拌羽根までの距離 [cm]
 h_l = 槽底から下段攪拌羽根までの距離 [cm]
 h_n = 槽底からノズルまでの距離 [cm]
 K_Ga = 亜硫酸ソーダ法による酸素移動総括容量係数 [g·mol/ml·atm·sec]
 n = 攪拌羽根の回転速度 [1/min]
 N_A = 通気数 ($=Q/nD_t^3$) [—]
 N_b = 邪魔板数 [—]
 N_u = 上段攪拌羽根数 [—]
 N_l = 下段攪拌羽根数 [—]
 P_g = 通気時の単位容積あたりの攪拌所要動力 [IP/m³]
 p = 酸素分圧 [atm]

P = 無通気時の単位容積あたりの攪拌所要動力 [IP/m³]
 P_N = 動力数 ($P_{gc}/\rho n^3 D_t^5$) [—]
 Q = 空気容積速度 [cm³/sec]
 R_e = レイノルズ数 ($=n D_t^2 \rho/\mu$) [—]
 V_s = 槽断面積基準の空気の線速度 [cm/sec]
 W_b = 邪魔板の巾 [cm]
 ρ = 液の密度 [g/cm³]
 μ = 粘度 [g/cm·sec]

文 献

- 1) Bartholomew, W. H., Karow, E. O., Sfat, M. R., Wilhelm, R. H.: *Ind. Eng. Chem.*, **42**, 1810 (1950).
- 2) Gagen, E. L., Jr.: *Aeration and agitation in fermentation*. Sci. Repts. Instituto-Superiore di Sanita **1**, 161 (1961).
- 3) Maxon, W. D.: *J. Biochem. Microbiol. Tech. Eng.*, **1**, 131 (1959).
- 4) Virgilio, A., Marcelli, E., Agrimino, A.: *Biotechnol. Bioeng.*, **6**, 271 (1964).
- 5) Strohm, J., Dale, H. F., Peppler, H. J.: *Appl. Microbiol.*, **7**, 235 (1959).
- 6) Maxon, W. D.: *J. Biochem. Microbiol. Tech. Eng.*, **2**, 165 (1960).
- 7) Steel, R., Maxon, W. D.: *Biotechnol. Bioeng.*, **4**, 231 (1962).
- 8) Rushton, J. H. Oldshue, J. Y.: *Chem. Eng. Progr.*, **49**, 161, 267 (1953).
- 9) Rushton, J. H. Oldshue, J. Y.: *Chem. Eng. Progr. Symposium Series*, **55**, 181 (1955).
- 10) Cooper, C. M., Fernstrm, G. A., Miller, S. A.: *Ind. Eng. Chem.*, **36**, 504 (1944).
- 11) Ohyama, Y., Endoh, K.: *Chem. Eng. (Japan)*, **19**, 2 (1955).
- 12) Mizusawa, K., Ichishima, E., Yoshida, F.: *Agr. Biol. Chem.*, **28**, 884 (1964).
- 13) Mizusawa, K., Ichishima, E., Yoshida, F.: *Agr. Biol. Chem.*, **30**, 35 (1966).
- 14) Waksman, S. A.: *The Actinomycetes*, vol. 2, 300, The Williams & Wilkins Co., Baltimore (1961).
- 15) Nomoto, M., Narahashi, Y.: *J. Biochem.*, **46**, 653 (1956).

(昭49.11.6 受付)