discussed statistically from the results of the test analyses.

2) The micro-balances used had an accuracy of $\sigma_w \div 2\gamma$, sucrose of 2~4 mg was used chiefly as the test material, and its contents of carbon and hydrogen were determined after the method of PREGL with some modifications using an automatic controlled combustion apparatus⁽³⁾.

3) In 406 analyses (during 2.5 years), C% found showed a good consistency with that calculated, namely: mean error = +0.025% and $\bar{\sigma}_C = 0.15\%$. No special care for the air conditioning was taken, yet no seasonal variation of the data was observed (Table 1). As somewhat higher results (ca. 0.2%) were expected in summer by the diffusion of the humidity into the absorption tube, it was supposed that the sample might absorb humidity from the air while it was being weighed.

4) In 108 analyses (during 1 year), H% found showed a good consistency with that calculated on the average (mean error = -0.03%), but the fluctuation of the data ($\bar{\sigma}_H = 0.19\%$) was somewhat larger than that of C%. Besides, H% found was high in summer and low in winter. These facts might be explained as follows.

a) The amount of water introduced into the reaction tube while the platinum boat was taken out and in it might be canceled, on the average, by the amount of water temporarily taken hold by PbO_2 .

b) But the amount of the former was high in summer and low in winter, and that of the latter might not be constant in every determination.

通気培養の各種型式に関する基礎的研究 (第 3 報)

通気培養の理論と麴菌の成長

池野 洋一, 酒本 博之, 尾崎 茂一郎 (三楽酒造株式会社研究所)

昭和 30 年 5 月 7 日 受理

Fundamental Studies on Several Types of the Aerobic Fermentors. Part 3.

Theory of Aerobic Fermentation and Growth of *Aspergillus* sp.

By Yōichi IKENO, Hiroyuki SAKAMOTO and Asaichirō OZAKI

(Research Institute of Sanraku Shuzō Co., Ltd.)

I. 緒 言

第 1 報⁽¹⁾及び第 2 報⁽²⁾において、数種の laboratory fermentor につき、垂硫酸法による酸素の吸収速度及び攪拌動力の測定結果を報告すると共に scale up の問題に言及した。本報においては先に turbine type と呼んだ laboratory fermentor を用い、種類の通気攪拌条件の下に糖蜜を原料とした溶液に *Aspergillus* sp. を培養し、その成長曲線を描き、通気攪拌条件が菌の成長に如何なる影響を与えるかを示すと共に、それに対する理論的説明を加える。

II. 理 論

Fig. 1 右図の如き状態を考える。実際、菌濃度が大きくなれば菌糸間を酸素が拡散する抵抗 $1/K_{mv}$ (第 1 報で述べた V/K_m に等しいもの) が大になり、総ての細胞が均一な P_m という環境に在る訳ではないが、

Fig. 1. Schematic Diagram of Oxygen Transfer

- $1/K_d$ Specific resistance of oxygen transfer at gas-liquid interface
- $1/K_{mv}$ Specific resistance of oxygen transfer through mycelia
- P_a Partial pressure of oxygen in air
- P_l Partial Pressure of oxygen in equilibrium with oxygen concn. of medium in bulk
- P_m Partial pressure of oxygen in equilibrium with oxygen concn. of cell environment

Fig. 1 の如き模型を考える。即ち菌は均一な環境に在り、菌糸間の拡散抵抗は菌の在る位置とは分離して独立の抵抗体として、気液接触面と菌との間に在ると考える。

酸素の移動量は定常状態では次式で表される。

$$\frac{P_a - P_m}{\frac{1}{K_a} + \frac{1}{K_{mv}}} = k_r C_m \quad \text{.....(1)}$$

但し、 K_a ：酸素吸収速度係数 [g-mol/min. Atm. cc]

K_{mv} ：菌糸間の酸素拡散係数 [g-mol/min. Atm. cc]

P_a ：大気中の酸素分圧 [Atm]

P_m ：菌の環境の酸素濃度と平衡関係に在る酸素分圧 [Atm.]

k_r ：菌の呼吸速度係数 [g-mol/min.g]

C_m ：菌濃度 [g/cc]

K_a 一定で培養を行つた場合、 C_m の増加につれて P_m は次式によつて変化する。(1) 式を変形して、

$$P_m = P_a - \left(\frac{1}{K_a} + \frac{1}{K_{mv}} \right) k_r C_m \quad \text{.....(2)}$$

これを模式的に表わすと Fig. 2 の如くなる。 P_m が減少して或る限界値 P_{mc} に達すると菌の呼吸速度 k_r が減少する。その時には菌の成長速度も減少する事が予想される。

$P_m = P_{mc}$ の時、(1) 式は

$$\frac{P_a - P_{mc}}{\frac{1}{K_a} + \frac{1}{K_{mv}}} = k_r C_{mc} \quad \text{但し、} C_{mc} : P_m = P_{mc} \text{ に於ける } C_m$$

$$\therefore C_{mc} \left(\frac{1}{K_a} + \frac{1}{K_{mv}} \right) = \frac{P_a - P_{mc}}{k_r} = a \quad \text{.....(3)}$$

P_a 一定の場合には (3) 式は或る一定値 a となる。

$$\text{次に } \frac{1}{K_{mv}} = b \frac{C_m}{K_a} \quad \text{.....(4)} \quad \text{但し、} b : \text{或る定数}$$

と仮定すれば、(3) 及 (4) 式より、

$$K_a = \frac{1}{a} C_{mc} + \frac{b}{a} C_{mc}^2 \quad \text{.....(5)}$$

この、 K_a と C_{mc} との関係が求まれば、菌糸間の拡散係数の性質を示す b の値が求まる筈である。

次に酸素の供給量は第 1 報と同様に、

$$\frac{P_a - P_{mc}}{\frac{1}{K_a} + \frac{1}{K_{mv}}} = k_r C_{mc} \quad \text{.....(6)}$$

気泡中の酸素分圧の及ぼす影響を考慮して、 P_a の最大値と供給係数に比例する値である。但し、一般に $P_a \gg P_{mc}$ 、 $K_{mv} \propto K_a$ であると考えた。

亜硫酸法で求めた K_a と培地の K_a とは値が異つても、互ら高に比例関係があると考えられるので、以下の報告では (6) 式の K_a は亜硫酸法で測定した値を示した。

III. 実験方法

Aspergillus sp. を 30° で糖蜜を原料とした下記の培地で培養した。Initial の pH=4.94, 酸度 4.7, 全糖 1.0 %, 全窒素 0.074 %, 固形分 0.137 g/dl である。経過分析は菌濃度のみについて行つた。菌濃度の測定は培地 100 cc を 100 mesh の篩で濾過し、菌体を搾つて後 105~110° で 3 時間乾燥後秤量した。

使用した fermentor は第 1 報 Fig. 3 の turbine type (但し液量 2.8 l) で、通気攪拌条件を Table 1 に示す Laboratory fermentor で培地を 100 cc も取ると液量が著しく変化する為、サンプルの量に等しい新しい培地を加えて液量を 2.8 l に保つた。

Table 1. Agitation-Aeration Conditions of Laboratory Fermentor

Agitation r.p.m.	V_s cm/min.	V l/min.	K_a g-mol/min. Atm. cc	P_a Atm.	$K_a P_a$ g-mol/min. cc
0	5.4	0.9	7.9×10^{-8}	0.202	1.6×10^{-8}
0	12	2.0	1.6×10^{-7}	0.202	3.2×10^{-8}
0	30	5.0	3.7×10^{-7}	0.202	7.5×10^{-8}
0	60	10.0	6.7×10^{-7}	0.202	1.4×10^{-7}
140	1.8	0.3	2.4×10^{-8}	0.202	4.9×10^{-9}
175	12	2.0	1.53×10^{-7}	0.202	2.7×10^{-8}
270	24	4.0	7.5×10^{-7}	0.201	1.5×10^{-7}
420	1.8	0.3	8.2×10^{-7}	0.187	1.5×10^{-7}
420	6.0	1.0	1.35×10^{-6}	0.194	3.0×10^{-7}
420	6.6	1.1	1.6×10^{-6}	0.194	3.1×10^{-7}
450	6.0	1.0	1.9×10^{-6}	0.192	3.6×10^{-7}
620	9.6	1.6	6.6×10^{-6}	0.179	1.2×10^{-6}

 V_s : Average superficial linear air velocity V : Volumetric air velocity

IV. 実験結果

成長曲線の数例を Fig. 3~
Fig. 8 に示した。これらは縦
軸に菌濃度, C_m の log を取つ
た。最大酸素供給量を変えても
log phase の成長速度には殆ん
ど変化が認められず,

$$\frac{dC_m}{dt} = kC_m \dots \dots \dots (7)$$

で示される k の値はほぼ 0.264
1/hr. であった。しかし $K_a P_a$ を
変えると log phase から離れる

Fig. 3. Growth Curve 1

Fig. 4. Growth Curve 2

Fig. 5. Growth Curve 3

Fig. 6. Growth Curve 4

Fig. 7. Growth Curve 5

点の菌濃度 C_{mc} が変化する。この時酸素が limiting
factor になっている事は Fig. 6 の如く, log phase
より成長速度が遅くなつた時に $K_a P_a$ を大にして成長
速度が大になる事から知る事が出来る。成長曲線が
酸素が limiting になつて log phase から離れる点に
おいては, 菌の生活環境の酸素分圧 P_m は理論の部
で述べた限界値 P_{mc} になっていると考えられる。Fig.

Fig. 8. Growth Curve

2 及び Fig. 6 から考えても菌濃度の小なる間は $K_a P_a$ を大にしなくても $P_m > P_{mc}$ に出来る筈である。そこで Fig. 7 の如く菌濃度の増加につれて, $K_a P_a$ を大にした培養を行つた。不充分な実験ではあるがほぼ前述の考え方が正しい事がわかる。

Fig. 9. $C_{mc}-K_a$

Laboratory fermentor の培養実験中 P_a が等しいものについて C_{mc} と K_a との関係を求めたものが Fig. 9 である。これは (5) 式に相当するものであるが、これだけでは未だ K_m の性質を知る事が出来ない。

この培養に必要な酸素供給量を知る為に $C_{mc}-K_a P_a$ の関係を Fig. 10 に示した。この培養には $K_a P_a = 1.5 \times 10^{-7}$ g-mol/min. cc でほぼ充分である事がわかる。振盪培養の場合の K_a は第 1 報 Table 1 の $1 / \left(\frac{v}{K_c} + \frac{v}{K_g} \right)$ の値を採用した。振盪培養の成績が fermentor の成績より良い事は ROXBURGH 等⁽³⁾ も ustilagic acid の生産で述べているが、Fig. 10 に示したようにこの場合も振盪培養の成績が明らかに良い。振盪培養の場合には fermentor と異り機械的衝撃が無いので、その影響を見る為に Fig. 11 の如くフラスコ内に長さ 30~35 mm, 直径 7 mm のガラス管を入れたものと入れないものとで培養を行つた。Shaker は振幅 70 mm, 120 r.

Fig. 10. $C_{mc}/K_a P_a$

Fig. 11. Influence of Mechanical Strike

p.m. で 10^{-6} g-mol/min. cc の酸素供給量を求めた。ガラス片の入つたものでは log phase の成長速度及び log phase から離れる点の菌濃度が小さくなる事が認められるが、このように fermentor の攪拌よりも強度の衝撃で Fig. 11 位の差では Fig. 10 の点を説明する事は出来ない。培養液を振盪培養するとフラスコ壁に附着して一部表面培養の如くなるので、その影響を元来無い Roux flask に 50 cc の培地を入れて表面培養を行つた。その結果を Fig. 8 に示したが明らかに lag が大になる。Roux flask に 50 cc の培地を入れ綿栓をしないで酸素の吸収量を測定したが、 2.0×10^{-6} g-mol/min. cc であつた。同、菌濃度は振盪培養では 1000 mg/dl, 表面培養では 950 mg/dl, laboratory fermentor では 600 mg/dl であつた。

V. 要 約

糖蜜を原料とした全糖 1% 溶液に *Aspergillus* sp. を種類の通気攪拌条件で培養し、その成長曲線を検討し、理論的考察を行い、次の結論を得た。

1. 酸素供給量は $K_a P_a$ に比例するものであり、 $K_a P_a$ を変えても log phase の成長速度は変化しないが、log phase から離れる点の菌濃度、 C_{mc} に影響する。

菌濃度は最も低い

2. $K_d P_a - C_{mc}$ の図を画けば、その培養に必要な充分な酸素供給量を求める事が出来る。又培養中に $K_d P_a$ を変えて成長曲線の変化を見る事によつても必要充分な酸素供給量を求める事が出来る。

3. P_a の等しい培養条件の場合につき $K_d - C_{ms}$ の図を画けば、菌糸間の酸素拡散係数の性質を知る事が出来る。

4. 振盪培養は fermentor による培養とは異つた性質を有し、その差は機械的衝撃、表面培養の性質等考えられるが決定的原因はつかめなかつた。しかし fermentor の基礎実験として振盪培養を行う事には危険性がある。

5. 普通行われている通気培養法は $K_d = \text{const.}$ 培養であるが、菌濃度に応じて $K_d P_a$ を変えて常に $P_a > P_{mc}$ とする $P_a = \text{const.}$ 培養が有利である。

終りに臨み、終始御懇篤な御指導を頂いた東京大学の坂口謹一郎教授、朝井勇宜教授、三楽酒造株式会社常務取締役武田義人博士並びに発表を許可された三楽酒造株式会社鈴木三千代社長に深謝致します。尚、本報告を御校閲下さつた山田浩一助教授に感謝致します

(本報告の要旨は昭和30年春の日本農芸化学会大会において講演した)。

(1) 尾崎、池野 農化, 29, 307 (1955).

(3) J. M. ROXBURGH et al: *J. Agr. Food*

(2) 尾崎、池野: 農化, 29, 312 (1955).

Chem., 2, 1121 (1954).

Summary

We have cultured *Aspergillus* sp. in molasses solution contained 1% carbohydrate under several agitation-aeration conditions of laboratory fermentor (Part I, Fig. 3: turbine type) and examined the growth curves by the theory of aerobic fermentation. The results are as follows:

1. Maximum oxygen supply is proportional to $K_d P_a$ (c.f. Fig. 1). Growth rate of log phase is independent on $K_d P_a$ but the maximum cell concentration of log phase (C_{ms}) depends upon $K_d P_a$.

2. By $K_d P_a - C_{ms}$ diagram, we can decide the necessary and sufficient oxygen supply for the culture. Also, the oxygen supply is determined by changing $K_d P_a$ during culture and by examining growth curve.

3. $K_d - C_{ms}$ diagram in conditions that P_a is equal shows the characteristics of oxygen diffusion coefficient through mycelia.

4. Shaking culture is different in character from submerged culture in fermentor. The difference is considered partly due to mechanical strike of fermentor and also due to surface culture-like character of shaking culture, but deciding factor could not be found. So we may say that it is dangerous to consider shaking culture as basal experiment for fermentor culture.

5. Usually cultures, by which K_d is const., are performed, but we consider that cultures, by which $K_d P_a$ is changed corresponding to cell concentration and $P_a = \text{const.} > P_{mc}$ is maintained, are more economical.

通気培養の各種型式に関する基礎的研究 (第 4 報)

Scale-up

池野 洋一, 酒本 博之, 尾崎 茂一郎 (三楽酒造株式会社研究所)

昭和 30 年 5 月 7 日 受 理

Fundamental Studies on Several Types of the Aerobic Fermentors. Part 4. Scale-up

by Yōichi IKENO, Hiroyuki SAKAMOTO and Asaichirō OZAKI

(Research Institute of Sanraku Shuzō Co. Ltd.)

I. 緒 言

好気培養において大きさ或は形の異つた fermentor においても同一の醗酵成績を得る為には同一の酸素供給状態にする事が必要である、 $K_d P_a$ が最大酸素供給量に比例する値である事は第 3 報⁽¹⁾で示したが、 $K_d P_a$ が同じであれば同一の醗酵成績を得る事は KAROW 等⁽²⁾、ROXBURGH 等⁽³⁾ 多くの人人によつて実証されつつある。ここで最も問題になる点は大きさ或は形の異つた fermentor において通気攪拌条件により K_d が如何に変化するかどうかという事である。これを scale-up の問題として取上げ、幾何学的相似な 2.8 l, 80 l 及び 900 l の turbine-