

72	63.9	12.1	38.9	67.3	13.2	40.4
90	66.8	13.6	40.9	65.6	14.6	42.4

備考 品温は、引込枚数の差により、常法仕込で最高35°Cに止つたが、澱粉添加仕込では37°Cに達し、水分蒸発は前者に比して多い。

出廻 90時間目 そのクエン酸石灰の収量を比較すれば次表の如くなる。

	常法仕込	澱粉添加仕込
搾 汁	3600.1	3930.1
全 クエン酸	2.98%	3.28%
クエン酸石灰収量	133.1Kg	160.0Kg
相当するクエン酸	111.2Kg	134.0Kg
生粕に対する醗酵歩合	11.1%	13.4%

以上 1、2 の試験成績は基礎試験の結果と略々一致する。従つて生粕を主原料とする仕込みに於いてその 4.5%程度の澱粉を補添することは、工場の生産量を向上させコスト低下に役立つと考へられる。

3 1.500Kg仕込試験

試験 1、2 の結果から澱粉の添加によつて工場生産に有利な事が確実になつたので、澱粉原料として安価な土肉を用ひ、仕込量を 1.5トンに上げた場合に就いて試験した結果は以下の通りであつた。

仕込組成： 生粕 1.5トン、土肉 80Kg (澱粉含量 70.0%)、米糠 100Kg、撒湯 560.1

水分： 配合後 61.2% 蒸発後 62.7%

引込時 71.7%

盛込： 麹蓋 865枚

醗酵経過

時 間	水 分	クエン酸	乾 物 中 クエン酸
	%	%	%
15	71.6	—	—
24	70.8	1.2	4.1
40	66.4	7.1	21.1
43	65.2	10.5	30.2
65	64.8	12.8	36.4
72	64.0	13.1	36.4
90	63.6	14.7	40.4

備考 1 品温最高 38°Cを超へ、水分の蒸発過多。

2 麹室棚上下の品温の差 6~8°C で生酸の不揃いを認めた。

3 生麹時青黴の汚染が認められた。

搾汁液量： 5670.1

クエン酸石灰収量： 263.6Kg

相当するクエン酸： 220.0Kg

生粕に対する醗酵歩合： 14.6%

4 2.000Kg仕込試験

仕込組成： 生粕 2トン、土肉100Kg、

米糠 130Kg、撒湯 750.1

引込時水分： 71.8%

盛込： 麹蓋 1014枚

醗酵経過

時 間	水 分	クエン酸	乾 物 中 クエン酸
	%	%	%
15	71.6	—	—
24	63.8	0.9	2.9
40	63.3	6.9	21.7
48	63.0	9.5	29.7
65	64.4	13.5	37.9
72	63.6	14.5	39.9
90	61.6	15.9	41.4

備考 1 品温は16時間目 33°Cに、3日目最高40°Cに達し、平均37°Cを保つた。

送風による品温降下は効果が認め難い。

搾汁液量： 7300.1

クエン酸石灰収量： 361.4Kg

相当するクエン酸： 301.0Kg

生粕に対する醗酵歩合： 15.0%

以上の結果から生粕(水分70%)を主原料とする現在の工場生産に於いて安価な土肉を5%添加する事によつて未晒澱粉使用の場合と全様な成績でクエン酸石灰の日産量を増加し、コストの引下げに役立つ事が確められた。然し乍ら本法では引込時の水分を70%以上とし製麹中之を保持させる事が重要で製麹管理に於いては品温の調節と蒸発防止の為に必要な機械的考慮が払はるべきである。又極めて多湿状態での製麹である為、培養中青黴等の汚染を受け易いこと、又棚の位置によつて生酸の不揃ひを生ずる事等の点、室内の完全換気の方法に就いては今後尚検討の要があらう。

(註 此の試験は、上村化学工業株式の強力な援助の下に実施された、深甚なる謝意を表する。)

4. 2. 19 題目 クエン酸の工業的生産に関する研究 (第8報)

麹法に於ける雑菌汚染に就いて

川原 一、松久保好太郎

〔目的〕

麹法による工場生産に於いて、培養2日目頃より屢々耐酸性青黴の繁殖が認められ、特に醗酵後期には麹表面の大部分が青黴胞子で覆はれ、クエン酸の生産に甚大な被害をもたらすことを経験したので、此の対策を講ずる

目的で実験を行った。

〔概要〕

- 1 汚染菌の分離並びにその生理的特徴。
 - 2 工場に於ける汚染経路とその原因の考察
 - 3 紫外線照射による殺菌の効果
 - 4 デハイドロ酢酸 (DHA) の使用効果
- 以上の点に就いてクエン酸発酵生能力に対する実験を行った。

〔成果〕

- 1 工場内空気、汚染菌等より常法に依つて分離した *Penicillium* から代表的な2株を選択した。両株ともクエン酸添加麹エキス、及びツアベック培地に良く繁殖し、クエン酸30%の濃度にも耐へ、特に好酸性であることが特長である。
- 次表に示す如くクエン酸の分解力は旺盛である。

	クエン酸濃度	クエン酸消費率	生 育
	%	%	
1	3	70.8	卅
2	5	17.4	卅
3	10	10.4	卅
4	15	16.0	十
5	20	19.0	十
6	30	12.6	十

註 1 ツアベック培地、培養9日

2 菌株 No. 1

又本株を澱粉常法培地に種菌と混合培養した結果は次表の如く種菌接種時に同時混入すれば

Pn.接種時期	汚 染 度	麹 水 分	クエン酸
	%	%	%
種菌接種時	75	73.05	4.73
〃	60	73.35	5.78
〃	50	77.79	5.95
培養24時間目	40	77.24	6.30
〃	10	76.91	7.18
対 照	0	77.35	10.05

註、汚染度は、シャーレ表面の青黴の生育程度、培養4日

汚染度75%でクエン酸蓄積の阻害は、50%以上を示し、正常な製麹24時間目に混入せしめたものは、生育が少々遅れ生酸阻害は前者に比し、幾分弱い様である。此等の阻害作用は之等の青黴が種菌の正常な発育を阻害する為か、或は生成したクエン酸を消費分解する為か、断定出来ないが、此の両株を常法澱粉粕培地にクエン酸を添加して、その濃度を1.8%、4.7%、8.9%としたものに培養した結果又黒黴は本株に対し少くも拮抗的な動きは持たぬ様である。

菌 株	クエン酸濃度	クエン酸消費率				生 育		
		40時間	64時間	90時間		40時間	64時間	90時間
<i>Penicillium</i> No. 1	1.8	11.75	17.60	—	—	++++	++++	++++
	4.7	4.52	14.10	—	—	+++	++++	++++
	8.9	3.51	4.97	—	—	+	+++	++++
〃 No. 2	1.8	19.10	17.70	—	—	++	+++	++++
	4.7	5.65	12.40	—	—	++	+++	+++
	8.9	3.22	8.75	—	—	+	+++	+++

註 1 培地組成、澱粉粕100%、米糠20%、クエン酸6% (8%, 16%) 水300c.c.,

2 クエン酸濃度は蒸煮後の原料中%で示す。(水分63.2~64.4%)

- 2 麹汁寒天を用い落下法により工場内の各場所に出現株数を数へ、汚染の程度を比較した結果では、原料の混合粉碎の室と出麹室とが最大で之に隣接する作業場が之に次いで多く、硫黄燻蒸直後の麹室では僅少であった。之は原料特に澱粉粕に由来すると思われるが、此の点工場設計に於いて考慮すべきであろう。又汚染の経路に就いては蒸煮直後の原料から全く検出し得ないことと、之を無菌的に接種引込みした場合の汚染は極めて少く且生酸に影響が認められない事から、廻り出し、放冷、接種、盛込迄の間に浮遊する孢子に依つて汚染されることが確かめられた。

註 (此の実験は上村化学工業KK、郡山工場長に負ふ所大きい、記して謝意を表す。)

- 3 紫外線照射による空気殺菌の効果を試験する目的でマツダ殺菌灯 (15W) を 15cm の距離で青黴孢子に照射したが、100 分で尙完全殺菌は不可能であつた。又試験1の種菌との混合培養した麹に照射培養を試みたが、200 分の照射によつても尙表面の青黴の繁殖を阻止し得なかつた。尙正常な製麹工程に於いて時期を異にして一定時間麹表面 15cm の距離から照射した結果では 200 分迄の実験では青黴の発育は同様阻止し得ないが、クエン酸の生産には顕著な阻害は認められなかつた。従つて作業室内の空気殺菌には更に安全な方法が検討されるべきで、紫外線ランプを之に利用することは實際的にその効果はうたがわしい様である。

4 デハイドロ酢酸 (Na 塩) の効果

以上の実験結果から麹法によるクエン酸醱酵に於いて生産の安定と醱酵歩合の向上を阻害する一原因として青黴によることが明らかになり且その汚染経路は作業室内空気の極度の汚濁によることが認められたので、紫外線の照射により室内空気を殺菌せんと試みたが殆んどその効果は認められなかつた。そこで種々の防黴剤を原料に添加して、雑菌の発育を全く阻止するか或は初期の繁殖を或時間阻止してその間に正常な黒黴の醱酵を営ましめることは出来ないかと考へ二三の実験を行つたが茲ではDHAの効果に就いて得た結果を述べる。

DHAの黒黴及び青黴に対する阻害濃度は次表の如く黒黴では(1:5,000)で尚完全阻止は出来ないが(1:10,000)以上では醱酵を阻害する様である。又青黴に対しては、(1:10,000)で初期40時間位生育の遅延が認められ(1:5,000)では完全阻止の効きが認められる。

DHA濃度	菌 株	生 育				生 産 中	
		24時間	40時間	72時間	90時間	クエン酸	水分
1:5,000	Penicillium Asp. niger	—	—	—	—	3.15	68.4
1:10,000	〃	—	—	±	±	11.90	66.4
1:40,000	〃	冊	冊	冊	冊	15.45	66.0
1:60,000	〃	冊	冊	冊	冊	15.80	66.0

- 註 1 澱粉粕(乾物)100、米糠 15、浸漬水(DHA溶液)200の組成の培地。
2 表中DHA濃度は、浸漬水の濃度を示す。
3 麹は90時間目分析
4 Penicilliumは汚染青黴、Asp.nigerはNo.945—P-20

次に黒黴と2株の汚染麹より分離した青黴とを混合培養した場合のDHA濃度による青黴の繁殖阻止の程度とクエン酸生産に及ぼす影響に就いて前実験と同一組成の培地で実験した結果は次表に示す通りである。

DHA濃度	菌 株	出現コロニー数		クエン酸	水分
		96時間	110時間		
1:10,000	Penicillium No.1	0	2	16.3	63.4
	〃 No.2	0	0	16.0	68.0
1:15,000	〃 No.1	0	2	16.2	63.4
	〃 No.2	0	1	16.0	68.6

1:20,000	〃 No.1	0	2	15.95	68.4
	〃 No.2	0	0	15.9	69.2
1:25,000	〃 No.1	1	5	16.55	68.4
	〃 No.2	0	1	15.7	69.2
1:30,000	〃 No.1	0	2	16.2	68.4
	〃 No.2	0	1	15.4	70.4
1:35,000	〃 No.1	0	3	16.2	68.4
	〃 No.2	0	1	16.0	69.2
1:40,000	〃 No.1	6	6	15.9	68.0
	〃 No.2	0	1	15.4	70.4

註 1 DHA濃度は浸漬水の濃度で示す。

2 胞子は殺菌水10ccに、黒黴20白金耳、青黴各々2白金耳を混合し、その0.5ccを接種する。

3 麹の分析は110時間目

此の結果から2株の青黴ではNo.1がDHAに対する抵抗が強く96時間で1:25,000の濃度に於いて発育が認められた。110時間目ではNo.1株は何れの濃度でも生育したが、No.2株は1:20,000以上では殆んど生育しない。又醱酵には此の実験の濃度の範囲では何等阻害的な結果は認められない。従つて原料浸漬に使用する浸漬水のDHA濃度は1:20,000若しくはそれ以上で青黴の汚染を防止し正常なクエン酸生産の目的が安全に達せられることが分つた。実際工場に於いては原料浸漬は2倍の水を使用するから原料澱粉粕乾燥1トン当りDHAの最低使用量は100g内外となり工業的に採用可能な方法と考えられる。尚本剤の如く吾々の目的と合致する様な選択的に抗黴作用を示す他の抗黴性物質に就いては目下検討中である。

(註 此の項の実験は上村化学工業K.K.今村常雄君が担当した)

4.2.20題目 クエン酸の工業的生産に関する研究(第9報)

密閉醱酵型式によるクエン酸醱酵

川原 一、松久保好太郎

(目的)

前報の如く開放式固形醱酵では製麹工程を無菌的に操作することが事実上不可能でその為、培養後期に於けるPenicilliumの汚染は麹中のクエン酸蓄積を低下し、工場生産の安全度に相当重大な影響をもたらしている。そこで吾々は固形醱酵を無菌的な環境で遂行する目的でCahnの報告等を参考にして、以下の試験を実施した。

註 F. J. Cahn: Ind. Eng. Chem. 27, 201 (1935) その施設の詳細は明らかでない。又 Rotary Fermenterによる機械的製麹の報告もあるが吾々の場合には応用が困難の様である。

その設備の概要は以下の通りであるが、その要点は密閉タンクに多数の培養棚を設け之に原料を薄層に盛込み、蒸着冷却後種菌を無菌的に撒布接種して、そのまま