

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醗酵に於いて生産の安定と醗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醗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)で尙完全阻止は出来ないが(1:10,000)以上では醗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	—	—	—	—	—	—
1:10,000	〃	—	—	土	土	3.15	68.4
1:40,000	〃	冊	冊	冊	冊	11.90	66.4
1:60,000	〃	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	63.0
1:15,000	No.1	0	2	16.2	63.4
	No.2	0	1	16.0	63.6

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。又醗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。尙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)

密閉醗酵型式によるクエン酸醗酵

川原 一、松久保好太郎

【目的】

前報の如く開放式固形醗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。そこで吾々は固形醗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

醗酵させる方法で今回は一応予備実験の意味で実施した小規模な工場試験に就いてその要旨のみを報告する。

(紙面の都合により、図表等省略した。)

〔概要〕

1 培養装置： 内径6尺×10尺の横型鉄タンク（常用圧力10封度）。内部に蒸気及び空気用パイプ、種菌撒布装置、培養棚60枚、室温品温の測定温度計等を装置した。

培養棚： 4.3尺×1.5尺×0.12尺の木枠に耐酸塗装の金網をつけ、之を室内に2列、各列15段、棚間隔0.2尺に2組計60枚を取付け、棚は引出せる様にした。

種菌撒布装置： 8分の3吋長さ8尺のパイプに1.5尺の間隔で12個の噴霧孔をつけ、之が棚の両列間を上下出来る如く全体に取付けた。

2 仕込方法： 乾粕100kg、米糠20kg、水250 lで一夜浸漬したもの、又生粕300kg、米糠15kgを混合したもの各々約6kgを一枚の棚に盛込み、105°Cで30分間煮沸後無菌空気を送入し乍ら罐体に冷水を流して放冷し次の如く接種した。種菌タンクに40立の孢子無菌水懸濁液を調製し、之に30封度の圧力をかけ、接種ノズルを上下し乍ら各段の原料表面に撒布した。

3 培養： 室内温度28~30°Cを保持し、品温上昇後は冷水還流と通気とによつて33°Cを超へぬ様に調節した。通気方法は種々の割合で行つたが、大体に約3~5時間後に開始して30~60分毎に間歇的な方法を探つた。

4 分析は麹重量とその乾物中クエン酸を測定し、搾汁液中の全酸で収量を比較した。

(1) 盛込量： 棚一枚当浸漬後の原料を2~7kgの範囲で比較すると次表の如く盛込量の少いもの（薄層）が必ずしも醗の蓄積は良くない。

盛込量	麹		
	水分	乾物中クエン酸	
	%	%	
2 kg	73.5	21.2	シャーレ培養
3	74.0	24.8	
4	72.5	26.3	
5	74.5	30.0	
6	71.5	33.5	
7	75.0	26.6	
対 照	76.0	43.7	

註 培養110時間

即ち6kg内外の盛込（層高約3cm）が適当で此の

盛込量で1回の仕込量は乾粕で100kg、生粕で300kgが可能である。

又1枚の棚に就いてその各部位から試料を取つて醗の蓄積量を比較すると次表に示す如く表面では110時間培養で乾物中44%を示し、之はシャーレ培養の結果に近い値であるが底部及び層の中心部では之より低い値を示し、而も此の部分が主体をなしているもの様である。

試料の採取部位	水分	乾物中クエン酸
	%	%
中 央 表 面	73.0	44.4
周 辺 部 表 面	71.5	44.2
底 部	73.5	35.9
平 均	73.5	35.9

註 盛込量6kg、培養110時間

即ちこの様な静置固形培養の型式では、菌の接種が表面だけに止り、深部への菌体繁殖に遅速を生ずることが主な原因で、その他に層深部への通気不十分に因ることも考えられるが、此の点は未だ明らかでない。

(2) 培養棚の上下段位置の影響では盛込量を種々の量に変えて棚の各位置の麹試料を分析した結果から一般的な傾向は認め難いが麹乾物中10%内外の生酸の差は避けられない様である。此の原因としては多数の棚が密に配列される為完全な換排気を阻害し、好気条件に差を生ずると共に品温の均一な調節が困難となる為であらうが、此の点は機械的に改良され得るであろう。

(3) 通気量及び方法に就いては未だ充分の検討は行はれていないが、通気量毎分200立で培養4日間連続通気、30分間隔で30分間の間歇通気、5時間毎に30~60分間間歇通気及び無通気の場合を夫々比較した結果を考察すると（次表参照）、通気による効果は消費酸素の補給又は発生CO₂の排除等直接の効果は顕著には認め難く、此の程度の通気量では送風による室内の温湿度の調節に直接役立っているものの様で通気量の多少によつて生酸に差は認められなかつた。従つて此の目的から謂へば室内換排気の装置は尙検討の余地が多い。此の事は現在の麹室に於ける製麹操作でも同様で室内の酸素及びCO₂濃度がクエン酸生酸に及ぼす影響に就いては目下検討を加えている。

(4) 主な醗酵成績を示すと次表の通りであるが何れもシャーレによる培養には及ばなかつた。

	原 料 組 成			出 麵 量	麵 中 全 クエン酸	※※ 生酸率	通 氣 方 法
	澱粉粕	米 糠	水				
	kg	kg	l	kg	kg		
1	100	20	250	331.1	28.4	47.0	%培養初期、末期に8時間毎に30分醱酵最盛期3時間 毎5～15分間通気
2	100	20	250	343.8	32.2	47.3	連続通気200、l/m
3	100	20	250	353.6	24.5	39.6	3～5時間毎に30～60分間宛通気
4	100	16	216	293.5	27.9	46.8	4～5時間毎に30分間宛通気
5	※ 300	18	120	432.3	32.5	—	5時間毎に30分間通気
6	※ 130	9	60	189.4	15.4	—	無通気3日目開放
7	※ 200	10	—	185.6	17.6	—	連続通気200、l/m

註 ※生澱粉粕 (水分68.3%)

※※生酸率 $\frac{\text{クエン酸}}{\text{使用全糖}} \times 100$

〔成果〕

以上の結果から密閉式の固形醱酵を工業化する場合の問題として (1) 菌の完全な接種方法 (2) 室内換排気、温度調整方法 (3) 均一な通気方法等に就いて今後尚機械的な検討がなされるべきである。