

認められなかつた。脱水生粘を使用した仕込み成績は乾粘に換算して対原料50%以上となり極めて好収量であるが、之は生粘の澱粉価が高いこと、及び原料処理の点で特に製麴に適する様な物理的性状（粗鬆性、水分等）がととのへられた結果であろう。

何れにしてもこの結果からシャーレ仕込みの成績と殆んど大差無いことが認められる。

此の実験は殆んど連続仕込で約6ヶ月間実施されたが、その平均収量は、対原料34%を示し、現在の工場生産28~30%に比べて収量が高い。

(2) 以上の如く此の仕込方法では、従来の木製麴蓋に比べ有効な事が認められ、且つ仕込みの機械化又は連続仕込みの可能性も多い。

然し乍ら菌の接種方法に難点があつて此の点は早急に解決すべき問題である。同時に又この実験で使用した容器は種々の便宜上この様な小型のバットを使用したのが経済的なバットの型状、大きさに就いても又検討を要する。

4.2.20 題目 クエン酸の工業的生産 に関する研究（第12報）

種菌の使用方法に就いての二三の試験

川原 一、松久保好太郎

〔目的〕

種菌の育成並に接種方法等に関する基礎的実験結果に就いては既に報告した通りで、実際の工場生産に於いてもその成果が従来応用されて来ているが、時として工場に於いて、均一な接種を行うにも拘らず、製麴中の或部分に菌の発育が全く認められない場合や、或は又甚しく菌の繁殖に遅滞が認められる場合を屢々経験しているが此の事が本法の如き開放醗酵では青黴侵入の好機となり生酸の低下を来す主要なる原因と考えられるので此等の点を解明する目的で先づ種菌の使用方法に就いて以下の如き検討を加えると共に更に生酸速度を速める為の一方方法として発芽胞子による接種の効果に就いても検討を加えた。

〔実験結果及び考察〕

実験1、胞子の熱処理と生酸との関係

工場に於ける種菌接種時の物料の品温は通常 40~50°C の広範囲にあつて此の点に関しては必ずしも厳密な注意が向けられていない。従つて或る場合には相当の高温時に接種され胞子は長時間高温にさらされている結果ともなることが予想される。そこで先づ胞子を各種の温度で一定時間処理後これを接種して、此等の温度処理が生酸に如何なる影響を及ぼすかを調べた。胞子は5ccの殺

菌水に懸濁し 40°C、50°C、60°C で夫々5分、15分、30分処理後、澱粉粘3%、米糠0.5%、水7ccの組成の培地に接種常法の如く培養後の分析した。結果は次表の通りである。

処理温度	処理時間	生育状況	生酸比率
40°C	5分	+++	100%
	15分	+++	97.4
	30分	+++	98.2
50°C	5	+++	92.6
	15	++	92.6
	30	+	86.1
60°C	5	+	76.4
	15	±	40.0
	30	±	39.9

註 生酸比率は無処理の場合の生酸率を100とした場合の比率

即ちこの結果から 50°C 30分間の処理で菌の生育は明らかに阻害を受け、同時に約15%の生酸阻害が認められ、60°Cに於いては15分の処理で60%の生酸阻害が認められる。これは胞子がこの温度で死滅する為と考へるよりも、温度処理による胞子性状の変化と考へることが妥当であらう。従つてこの実験の結果から胞子接種時の物料の品温は相当敏感に生酸に影響し 50°C では既に生酸低下の危険性が認められ、物料品温は 40°C 以下に冷却後、接種することが安全と考へられる。

（この結果は工場実験の成績からも更に確認された。）

実験2 胞子の接種濃度と生酸との関係

物料は散布される胞子数が生酸に如何なる程度の影響があるか、又極めて高濃度の接種が生酸を阻害することは無いかの点に就いて以下の実験を行つた。培地組成その他は実験1に同じ。

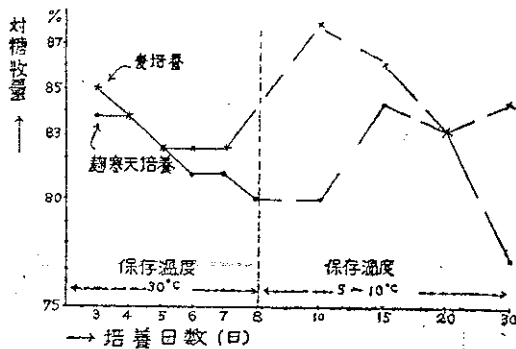
接種胞子数	生育の状態	対糖収量	備 考
		%	
2×10^5	+++	78.4	} 胞子着生僅少
2×10^4	+++	75.0	
2×10^3	+++	72.4	
2×10^2	++	72.0	
10^2	++	71.2	
1白金耳	++	78.0	

即ち表より明らかな如くこの実験の濃度の範囲では接種濃度が高い程生酸率は高いが胞子数を1/2000に少くした場合にも対糖収量の低下は約10%にすぎない事から、この様な無菌的な培養実験では胞子接種濃度は生酸に顕著な影響を及ぼさない事が認められる、然し乍ら菌の生

育状態は孢子数の少い区分では明らかに不良で、此の事は実際の工場操作では初期の菌の発育を遅らせる結果、青黴侵入の原因となり、これが為正常な種菌の生育は益々阻害されることとなり、従つて生酸を阻害すると考へて良いであろう。又濃厚接種に於いても何等の阻害も認められない事から実際に工場生産では出来る丈大量の種菌を使用することが安全な方法である。実験結果から算定した工場の所要種子重量(押麦培養)は乾粘1屯当り30~35kgとなる。

実験3 種菌の培養日数と生酸との関係

種菌調製の方法は既に報告した如く、押麦を水分50%の外に調節した培地で孢子を着生せしめるが、通常この培地で4日目には孢子着生が外観的に充分と認められるが接種後5~7日目のものを種菌として用いている。従来多くの研究に見られる如く前培養の時間は生酸に影響を及ぼす1因子と考へられるので、種菌の培養日数と生酸との関係を検討した結果は次図の通りである。



図に見られる様に 30°C で保存した場合には麦培養種子麹及び麹寒天培養共、培養日数の経過と共に生酸力は僅かに減少し、培養3~4日目の若い種菌が生酸に適している様に思はれるが、此の種菌を更に引続き室温(5~10°C)で保存して種子に使用した結果では麹汁寒天は生酸の変動が稍々はげしいが、麦培養では30日目のものに於いても殆んど生酸力に変化は認められず当初の能力を維持していることが認められた。此の事から此の醱酵型式では種菌の培養日数と生酸との間には何等の関連も無く、従つて孢子の着生が充分となればそれで使用に耐えるものと思はれる。然し乍らこの実験は種菌保存の問題と関連を有し保存の温度及び種菌の乾燥状態の影響等更に詳細な検討を要する。

実験4 発芽孢子による接種の効果

従来の実験並びに工場生産に於ける接種源としては専ら孢子の懸濁液が使用され、ここに接種された孢子の発芽には10~15時間を要し、この期間に雑菌侵入の危険が

多く従つて此の時間を短縮するは雑菌防止に有効であると共に醱酵所要時間を短縮する事ともなることが予想されるので、発芽孢子による接種の効果に就いて以下の実験を行った。

孢子発芽処理の方法

種々の予備試験から孢子発芽用培地としては一応麹汁(B118 10°)が適することから300cc三角フラスコに本培地100ccを取り之に押麦培養の種子麹(4日目)10gを加へて30°Cで150r.p.m.のRotaryshakerで振盪培養した。

先づ孢子の発芽程度の影響をしらべる為に発芽直後(発芽管形成時、振盪10時間目)、菌糸分岐せる時期(15時間目)、及び常法の未発芽孢子で常用培地(濃粉粘一米糠)に接種した場合の醱酵収率(対糖収量)は次表の通り。

培養時間	24	48	60	72	84	96
孢子種類						
未発芽孢子(常法)	13.5	59.5	67.0	80.5	85.0	89.3
発芽直後孢子	31.0	65.5	77.7	85.0	90.2	91.1
菌糸分岐孢子	23.8	63.4	71.2	79.4	85.0	89.3

培養初期特に24時間目に於いては常法に比べて発芽孢子接種区では2~2.5倍の生酸率を示し、特に発芽直後孢子(培養10時間目)の場合が顕著で、70~80時間目迄は、常法区に比べ発芽所要時間10時間に相当する生酸状態の差が明らかに認められ、96時間では之が殆んど認められないが最高生産に達する時間は発芽孢子使用区に於いて約10時間早い。菌体の生育状態に就いても同様で特に培養24時間目に於いては明らかに発芽孢子接種区の生育が旺盛である。従つて此等の結果から発芽孢子を接種源とする仕込方法は製麹初期の菌の生育並びに生酸のlag timeを除くか若しくは短縮し、雑菌の汚染防止及び生酸速度の促進に有効な事が略々明らかとされた。

次いで此等の結果を中間製造試験に應用した結果は次表の如く略々前実験と同様な結果が得られた。

製麹日数	未発芽孢子接種		発芽孢子接種	
	麹酸度%	水分%	麹酸度%	水分%
2	8.54	65.25	9.87	65.25
3	10.80	66.00	10.80	66.00
4	10.99	66.00	11.76	65.50

- 註1 仕込組成 乾燥粘140kg、米糠21kg、水280kg
- 2 種子麹使用量、麦培養種麹120g
- 3 孢子発芽時間、10時間

その後これを工場実験に移した結果は次表に示す様に発芽孢子接種区は製麹48時間目に略々最高生酸値に達し、之は常法接種区に比べ約20時間早く、且、青黴によ

る汚染は著しく減少することが認められ生産の安定化の有効な一方法である事が確認された。

製麹時間 接種源	19	24	43	48	67	雑菌 汚染度
未発芽孢子	2.9	4.3	7.8	8.2	10.8	卍
発芽孢子	5.6	7.0	10.3	12.3	12.7	+

- 註 1 仕込組成：圧搾生粕4 t (水分65%)、米糠240kg
- 2 発芽孢子調製法：20 l 珪藻タンク3本に種子麹3.4kg、殺菌水36 l を入れ16時間攪拌通気培養したもの。
- 3 表の数字は生麹中のクエン酸%を示す
(本法は現在工場生産に採用され成果を挙げている。本研究に協力された上村化学工業 KK 及び同社今村常雄君に謝意を表す。)

4.2.21 題目 クエン酸の工業的生産に関する研究 (第13報)

メチルアルコール添加に依る澱粉質原料の深部培養

川原 一、松久保好太郎

【目的】

澱粉粕をクエン酸醸酵の工業原料として利用する研究の1として麹法生産様式は既に工業化に成功したが、此の方法は簡易小規模な生産には適するが、工程の機械化が困難で大量生産形態に適しない欠点を有する。最近諸外国に於いては糖蜜その他の糖質原料を用いた深部培養の研究が急速に進展しているが、本邦ではこれ等の原料に代るものとして澱粉質原料が当然考慮されねばならない問題である。此等の見地から澱粉粕を原料とするクエン酸の深部培養法に依る製造に就いて研究した。

【概要と成果】

300cc三角フラスコに培地100ccを入れ、振幅1時、150 r.p.mのRotary shaker により振盪培養、温度30°C培養日数7~9日、菌株はメチルアルコール添加培地で生酸力の強い Asp. Awamori A-40を用いた。

- 1、澱粉粕を澱粉と併用することが有利でその配合割合は10対6を適値と認めた。
- 2 培地のメチルアルコール濃度は3~3.5を適値とし此の濃度では糖消費、酸生成並びにクエン酸純度すべて高められる。
- 3、メチルアルコールの添加時期は培養始発時が最も良く、この事からメチルアルコールの促進効果に就いて

二三の考察を加えた。

- (4)、窒素源の影響としてはその種類よりも量が問題で添加N量は30mg%の濃度を適値と認めた。
- (5) CaCO₃の添加は酸生成に有効でその適値は10g/lであつた。
- (6) 各種の塩類効果としてはPO₄のみが有効でKH₂PO₄ 0.129を適値とし、MgSO₄、KCl等は殆んど影響が認められない。又MnSO₄・4H₂Oの20mg/lは稍々有効であるがZnSO₄、FeSO₄等は何等の影響も認められなかつた。
- (7) 以上の結果から標準培地の組成を次の様に定めた。
澱粉粕 10%、澱粉 6% NaNO₃ 0.02%
NH₄Cl 0.1%、KH₂PO₄ 0.02%、H₂SO₄ 0.1225%
CaCO₃ 1% メチルアルコール 3V01%
- (8) 醸酵経過に就いて検討を加えメチルアルコールの作用効果その他に就いて二三の考察を加えた。
(本報の詳細は 醸工誌 34 158~161 (1956) に発表した。)