

No. 3	9.3	°C 38.5	9.10	°C 36.0	9.17	°C 35.0
-------	-----	------------	------	------------	------	------------

最後の追加仕込後の汲水歩合は酵母培養液も含めて32.8水となる。

(5) 諸味経過及び成分分析値

	試料採取	仕込符号	全窒素	食塩	直糖	P.H	醱酵状況
酵母添加前	8.18	No.1	1.163	18.08	6.55	5.0	微に泡立ち始む
	8.23	No.2	1.146	18.15	7.18	5.0	—
	8.25	No.3	1.151	18.11	10.32	5.0	—
第一回追加前	8.29	No.1	0.990	17.97	5.46	5.0	醱酵を始む
	8.29	No.2	0.976	18.03	5.98	5.0	微弱なる醱酵
	9.3	No.3	0.980	17.99	8.37	5.0	全上
第二回追加前	9.3	No.1	1.292	17.90	3.50	4.8	醱酵持続
	9.10	No.2	1.232	17.84	3.85	4.8	全上
	9.10	No.3	1.283	17.50	5.58	4.8	醱酵旺盛
第三回追加前	9.10	No.1	1.455	17.89	2.62	4.8	醱酵持続
	9.16	No.2	1.392	17.79	2.89	4.8	上澄を始む
	9.16	No.3	1.449	17.53	4.19	4.8	醱酵旺盛
仕込後約二ヶ月	10.20	No.1	1.591	18.19	2.10	4.8	醱酵微弱
	10.20	No.2	1.426	18.10	2.31	4.6	上澄
	10.20	No.3	1.530	17.82	3.38	4.8	醱酵弱まる

(6) 鑑 評

仕込後約二ヶ月目の生揚を火入、キキ味せる結果は次の通りである。

No.1、味液嗅を殆ど感ぜず、若干の酒精嗅があり、味の調和良し。色沢普通

No.2 味液嗅と共に若干の味増嗅があり、味も劣る。色沢淡し。

No.3 酒精の強い香りがあり、味液嗅を全然感ぜな

い。風味は悪くないが味の調和を欠く色沢赤味強し。(総括)

- (1) 味増用菌使用区は製麹工程中の稍失敗はあつたが醱酵も鈍く、最も悪い結果となり、仕込当初に発生した味増香は醱酵全期間を通じて少しも減少しなかつた。
- (2) 焼酎用菌使用区は糖分の蓄積も多く、醱酵も旺盛であつた。味液嗅を全然感ぜず此の点では最適と思われる。
- (3) 醤油用菌使用区は終始よく醱酵し、製品に於ける味液嗅の点では多少焼酎用菌区に劣るが、全窒素が少く全般的味の調和の点では最も優れて居る。

4.2.15 題目 クエン酸の工業的生産に関する研究 (第14報)

麹—液体折衷法並に澱粉及糖質源を併用する麹法に就いて

川原 一、松久保好太郎
浜崎 幸男

固形培養によるクエン酸の生産型式では液体培養の場合に比較して醱酵所要日数が短縮されることが一つの特徴であるが一方単位培養面積当りの生産量が極めて低い欠点を有する。例えば現在の工場実績では培養室床面積24坪で日産550~600Kgのクエン酸石灰が得られ之に要する麹蓋(1.5×2.0×0.2尺)は2,200~2,300枚にも達し麹蓋1枚当りの生産量は僅かに200~250g(クエン酸石灰)に過ぎない。この事が工業生産の見地から本法の欠陥となり当然醱酵生産の能率化の問題が考へられねばならない。

工業的に醱酵生産の能率を高める為の方策としては原料の利用率を高める為に対収収率を向上させる事は勿論第一の要件であるが、同時に原料の層厚を増加して培養の立体化を図るか、又は単位培養容積当りのクエン酸蓄積量を大きくするかの問題が提起される。前者に就いては既に照井、芝崎氏等によつて発表された所謂密閉高層堆積培養の型式が挙げられるが、之は液体深部培養に対抗して工業的に固型醱酵を営む場合の効果的な一手段といえよう。後者の方策として我々は既に澱粉粕を主原料にした麹式クエン酸製造に於いて、これに澱粉又は土肉澱粉等を添加併用して一応高濃度のクエン酸麹をつくることを可能にした。然し乍ら麹中のクエン酸蓄積には限度があり、水分60%内外の麹中に15~18%の生酸が極限と考へられる。即ちこの場合の麹に包含される液相のクエン酸濃度は20%以上に達することになるからである。

この際から高濃度仕込の目的で澱粉粕原料に澱粉質源又は糖源を添加併用するのみではいきおい対糖収量が減少して必ずしも工業的に有利とはいえない。

そこで今回は生産の能率化を目的として次の如き実験を行った。第一は麹—液体培養の折衷法、第二に密閉固形培養に於いて澱粉粕を担体として之に大量の糖源を feed する方法とに就いて若干の結果が得られたので報告する。

1 麹—液体培養折衷法

可及的無菌状態で常法の如く製麹したクエン酸含有麹に所要の糖源を含む培地で加水してモロミをつくり、これを振盪撹拌することによって既成菌体を二次的に利用しようとする狙いで予備実験として次の様な試験を行った。

実験方法

- A 製麹 100cc容三角フラスコで澱粉粕3g、米糠0.5g、水 7ccの組成で常法に従って一定時間製麹した。麹の重量10g 内外
- B 振盪培養 上記の麹全量を種々の組成の二次培地に投入して一定時間30.Cで振盪培養した。Shaker は 150r.p.m.、振幅 1時のRotaryShakerを用い、培養容器は300cc容三角フラスコとした。
- C 分析 培養終了後の bioth を濾過し濾液 5cc当りの 0.1N-NaOH 滴定値をもつて酸度とし、これよりクエン酸を算出して対糖収率を示した。

実験結果及び考察

I 製麹（一次培養）及び二次培養時間の影響

製麹時間を24、48、72、96時間とした麹に夫々糖液を添加して、製麹、振盪両培養時間を合計8日となる様にして実験した結果は第1表に示す通りである。

第1表

製麹時間	二次培地	二次培養日数	酸 度	糖 消 費
24	対 照 glucose	7	14.8 36.4	—% 61.1
48	対 照 glucose	6	18.5 35.6	— 55.5
72	対 照 glucose	5	16.8 36.2	— 60.1
96	対 照 glucose	4	15.3 38.0	— 63.3

註 1 二次（振盪）培地の対照は水50cc; glucose は 5.12%溶液50ccで麹に対し夫々5倍程度となる。

以上の結果より製麹（一次培養）時間の長短はモロミ中のクエン酸生成には殆んど影響を及ぼさないことが判る

若い麹中のクエン酸含量は当然低いと考へられるにも拘らず殆んど同様な数字を示している事更に二次培地の糖消費が、何れの場合にも大差の認められない事から二次培養に於ける生酸の伸びは一次培養で生成された酵素利用による生酸とは考へられない。又モロミの外観からも明らかにPellet状に増殖が行われている事が認められ又第2表に示す様に製麹時間を3日と限定し、二次培養の時間を2～6日に変えた実験の結果からも肯定される。

第2表

二次培養日数	二次培地	酸 度	糖 消 費
2	対 照 glucose	16.4 19.2	—% —
3	対 照 glucose	20.0 24.3	— —
4	対 照 glucose	19.4 30.8	— —
5	対 照 glucose	15.3 37.0	— 61.1
6	対 照 glucose	15.2 38.7	— 71.5

註 1 製麹時間 3日

2 対照水 50cc; glucose 5.20% 50cc

即ち麹を水と振盪した場合、その時間と共に僅かに酸度が上昇して3日目に最高値となり以後、これが減少する。5%糖液で振盪培養すれば、対照の場合に比較して酸の伸びの速度は早い最高値に達するには5～6日を要し、全培養時間は8～9日を必要とする。

以上の結果から我々の意図する麹の酵素利用の観点から、従来の麹法による生産に於いてクエン酸蓄積が極限に達した麹を加水稀釈して、更に酸の増加を図る事は或る程度の効果は認められるが実際問題としては到底望み得ない。又糖液と共に振盪培養する場合の酸の増加も単なる既成酵素の利用とは考えられず、結局は澱粉粕—糖培地で菌体の増殖を伴う振盪培養の結果に他ならない事が認められる。

この事は例えば製麹〇時間で直ちに糖液と振盪培養した結果でも5日目に濾液酸度23.5に達し前実験とはほぼ同様な結果が得られた事からもそれは明らかである。

然し乍ら原料として澱粉粕の様な固型分の多い試料をクエン酸醱酵の原料とする場合固型醱酵の型式をとる事は原料の形態からも当然考えられる事であつてこれを深部醱酵型式と折衷する考案は高濃度モロミを得る目的で或いは製麹の単位面積当りの生産量を増加させる上に有効な手段となるのではないかと考へられる。

此の観点から、先づ製麹日数と二次培養日数との適値を前記の第1、第2表に就いて検討すると、製麹（一次培養）3日後、振盪（二次）培養5日とする仕込方法が実際的には適当の様である。即ち一次、二次両培養に少くとも8日を必要とする事はこれらの実験から明らかであるがこの8日の全醱酵日数を両培養に如何なる割合に分けるかの問題であるが、一次培養の *Aga* が若い場合培地（麹）の菌の増殖、酸度が低く、このため二次培養に於ける Contamination の危険、或はモロミの粘性高く攪拌動力の消費の増大等の欠点が顧慮される。又設備の面でも醱酵槽を多く要することもあり得ない。一方製麹工程に於いては3日目頃迄は殆んど Contamination の危険は少く又麹中のクエン酸の蓄積も略々極限に近い値となり $PH1.5 \sim 1.6$ を示して二次培養の醱酵が安全に行われることも考えられ一応我々は、一次培養3日二次培養5日の方法を採用した。

次に麹と糖培地との仕込割合に就いて討した。麹とこれに二次的に添加する糖溶液との比率が低い程、即ち二次モロミで、麹の使用量を少くする程我々の目的とする固型醱酵の能率向上には効果的であるが実験結果は第3表に示す通り二次培養で麹の使用量が高い程対糖収量及び糖消費が高くなる結果が得られた。即ち表から明らかな様に麹約10gに対し糖液30cc（麹：糖溶液 = 1：3）

第3表

二次培地 仕込量	種 類	酸 度	培養当生 成 全 酸	対全糖 収 量	二次培地 糖 消 費
30	対 照 glucose	23.4 53.6	mg 983 2251	% 52.6 66.0	— 91.0
50	対 照 glucose	17.6 36.1	1232 2527	66.2 57.1	— 59.3
75	対 照 glucose	9.8 24.7	1029 2593	55.1 45.5	— 39.1
100	対 照 glucose	8.5 20.1	1190 2814	63.9 40.4	— 31.5

註 1 一次培養 3日 二次培養 5日

2 対照 水 50cc, glucose 5.20% 50cc

3 麹使用量 約10g 相当

で振盪培養した濾液中のクエン酸濃度は1N以上に達し、糖消費91%、対糖66%の醱酵収率が得られた。これに対し、麹：糖溶液 = 1：10では糖消費は僅かに31%に過ぎず、対糖収量も40%に低下した。これらの結果から実際的にこの方法を採用する場合、麹の割合は1：5以上が適当と考えられる。

次いで、二次培養に添加される糖源の種類とその濃度

を変えた実験の結果を示すと第4表の通りである。即ち、glucose の場合糖濃度は5%が良くそれ以上ではかえつて酸度は低下する。ナツメ（水分15.95%、全糖56.69%）でも略々同様な結果が得られた。

第4表

二 次 培 地		酸 度
糖 源	糖 濃 度	
glucose	5%	23.5
	10	11.8
	13	17.3
ナ ツ メ	5	28.8
	10	18.8
	15	26.0
solb. starch	5	15.7
	10	23.0
	13	20.0
でんぷん希酸糖化液	10	21.3

註 1 一次培養 3日 二次培養 3日

2 麹 約 10g 二次培地 50cc

soluble starchでは10%に適値が認められ、澱粉希酸糖化液等の澱粉質の場合のクエン酸収率には相当な低下が認められる。

以上の実験結果を実際の応用の見地から考察すれば既に述べた様に既成菌体を酵素源として利用せんとするする当初の目的は達成されなかつたが現在の麹法によるクエン酸生産の一つの欠点である単位培養面積当りの低生産を高める上には得られたクエン酸含有麹を単に抽出する現在に比較して稍々能率的な方法ではなからうかと考へられる。又澱粉粕を主原料とする場合この方式と液体深部培養の方式とを比較すれば、次の様な特徴が挙げられる。即ち後者では我々が既に報告した様に高濃度仕込みが困難であるが此の方式ではそれが可能であつて適当な二次培養の糖源を用ふれば最終モロミのクエン酸濃度は1N以上に上げられる事が可能である。又製麹工程が無菌的に管理されることが可能となれば麹に加水した後のモロミの酸度が相当に高い率から Contamination の危険は少く、従つて醱酵槽は簡易な開放式で且つ木槽の使用も可能であろう。

然し乍らこの方式は製麹工程の機械化と無菌的な管理の面とに重大な難点を有していることからこの点が改良される事が先決問題であることは言うまでもないが現行の麹式による生工場ではその施設と上述の様な簡易な深部培養施設とを併設することによつて生産の能率化が

達成されるのではないかと考へる。

II 澱粉粕と他の炭素源とを併用する固形醗酵

実験 I の結果から現行の麵式クエン酸醗酵の型式に於いて、醗酵の始発時或は醗酵途次に比較的大量の糖源を Feed する事も亦生産の能率化の上に有効な手段ではないかと考えられる。我々が先に報告した澱粉粕原料に澱粉及びぶどう糖を添加する仕込みでは此の添加量が低い場合であつて今回はこれ等の添加割合を更に高めた場合の醗酵条件に就いて検討を加へ以下の結果が得られた。

実験方法

A 培養 直径約80mm (内容積約110cm³) のシャーレに約5メッシュに粉砕し篩別した乾燥澱粉粕6gを取り所要量の米糠を混合した後、水分約70%になる様に(大部分は10~12cc)水又は糖液を加へ約1時間後良く攪拌混合、1時間煮沸して放冷する。これに殺菌水を加えて原料中の糖濃度を約20%になる様に調節して、孢子1~2白金耳を接種、30°Cで所要時間培養する。

B 分析麵の全量を秤量し、次にその10gを秤取し熱水で抽出、全量を250ccとなし、その濾液に就いて常法により0.1N-NaOHで滴定して麵中のクエン酸量を検へ使用全糖に対する収率をも示した。

実験結果並びに考察

1 局方 glucose の添加

一定量の局方 glucose 溶液を培養始発時と48時間目に feed した結果は第5表に示す通りである。

第5表

添加時期	添加糖量	出麵	麵クエン酸	全クエン酸/culture	対糖収率
始 発	10% glucose 2cc	20.5g	9.94%	2.038g	51.0%
	5	22.05	10.43	2.299	54.4
	10	26.8	10.15	2.720	57.5
48時間	2	18.4	12.39	2.279	57.3
	5	22.45	10.99	2.467	58.5
	10	28.3	9.38	2.654	56.0

註 1 配合組成：でんぷん粕6g、米糠1g、水14cc

2 培養 4日

3 澱粉粕全糖 62.18%

麵のクエン酸濃度には著しい上昇は認められないが一培養当り生産量は明らかに増加し対糖収率にも殆ど低下は認められないことから澱粉粕に糖を添加して生酸量が高めることは可能と考えられる。又添加の時機は始発時と48時間目とは、全酸、対糖収率共に顕著な差が認め

られないから原料配合時に糖を混合すれば良いと考えられるので以下の実験はすべて此の方法を採用した。

次に添加する glucose 溶液の濃度と、原料中の糖濃度を変える意味で煮沸後種々の割合に殺菌水を添加した結果を示すと第6表の通りである。

第6表

添加 glucose 溶液	殺菌水 添加量	出麵	麵クエン酸	全クエン酸/culture	対糖収率
0	0	15.3g	14.87%	2.276g	61.1%
	12	26.5	8.75	2.319	61.6
5	0	17.3	15.75	2.725	63.4
	5	21.3	13.65	2.907	67.5
	10	26.2	10.85	2.843	65.9
10	0	16.5	17.85	2.945	60.1
	5	22.0	14.00	3.080	62.8
	10	26.0	11.46	2.980	60.8
	12	29.5	11.55	3.407	69.6
20	0	17.1	18.38	3.142	51.7
	5	23.0	16.10	3.703	60.9
	10	25.8	15.31	3.950	64.9
	12	29.6	13.65	4.040	66.4

註 1 配合組成：澱粉粕6g、米糠1.2g、glucose溶液12cc

2 培養 5日

その結果、澱粉粕を水で浸漬して培養する常法仕込では始発時の糖濃度を下げる目的で煮沸後撒水する必要は認められない。然し乍ら澱粉粕を glucose 溶液で浸漬する仕込みでは明らかに一培養当生酸量が増加することは前実験の通りであるが始発時の殺菌水添加は対糖収率に強く影響を与える。即ち5% glucose 溶液添加の場合の撒水量は5ccに適値が認められ10%、20% glucose 溶液の場合夫々撒水12ccの場合に最高値が得られた。従つて原料中の糖濃度を高めただけでは固形麵中に蓄積される酸濃度には限界があつて当然、液相の糖濃度は稀釈されねばならないことが明らかである。澱粉粕は此の点極めて多孔質にして溶液の保持に適する担体としては有利で、乾燥物を約4倍の溶液で浸漬して固形の状態を保持し乍ら培養し得る特徴を有する。

又一培養当の生酸量は常法組成の仕込の結果に比べ20% glucose 添加区では約1.7倍に達した。

次いで添加 glucose 溶液の濃度を更に高めた仕込例は第7表に示す通り、20% glucose 区で全クエン酸量4.512g、30% glucose 添加区で5.060g40% glucose

区で4.810g に達し常法仕込みに比べ夫々1.88倍、

第7表

添加 glucose 溶液	殺菌水 添加量	出 麵	麵クエン酸	全クエン酸 /culture	対糖収率
%	cc	g	%	g	%
20	5 12	21.3 29.3	18.28 15.40	3.895 4.512	62.02 71.84
30	5 12	23.3 29.2	17.85 17.32	4.159 5.060	57.36 69.79
40	5 12	24.0 30.2	16.01 15.92	3.842 4.810	45.57 57.05

註 1 配合組成：澱粉粕6g、米糠1.2g、glucose 溶液12cc

2 培養：3日

2.11倍、2.00倍の生酸が挙げられる。然し乍ら対糖収率の点では30% glucose 溶液の添加仕込みに限界でそれ以上の高濃度 glucose 添加は収率が低下して経済的には有利でない。尙これと同一容量のシャーレを用い常法仕込（澱粉粕一水の組成）で培養可能な量的限界を試験した結果は第8表に示す通り澱粉粕6gより12g迄の仕込が可能で此の範囲では対糖収率に大差は認められない。

第8表

澱粉粕	出 麵	麵クエン酸	全クエン酸 /culture	対糖収率
g	g	%	g	%
6	19.8	13.65	2.525	65.8
7	24.3	14.00	3.402	73.1
8	27.3	13.65	3.720	70.1
9	30.8	13.38	4.128	69.9
10	35.3	13.78	4.854	73.5
12	42.9	13.03	5.583	70.4

註 1 配合組成：澱粉粕100、米糠16、水250

2 培養 4日

即ち、径80mm内容約110cm³のシャーレでは一培養当 5.58g の生産が限界と考へられる。

之を澱粉粕—glucose 溶液仕込に比べれば、原料澱粉粕の使用量が約1/2で上記と略々同一生産量が達せられ

ることとなり従つて単位容積当の生産量を増加することが明らかである。

2. その他の炭素源を使用した場合

以上の実験は何れも局方ぶどう糖を用いた結果であるが、之を各種の澱粉質源又は糖源に於いて試みた結果を第9表に示す。

添加糖源	添 加 量	全クエン酸 /culture	対糖 収率	培養当 生酸比
な し	—	2.20 ^g	58.9 [%]	100
澱 粉	0.6 ^g	2.91	68.5	133
〃	1.2	2.71	56.7	123
〃	1.8	3.01	58.1	140
〃	2.4	3.42	58.7	157
〃 酸糖化液	11.5%溶液 12cc	3.39	66.3	155
〃 液化酵素 処 理	19.6% 12cc	4.13	67.9	188
切干は蓼 (酸糖化液)	10.8% 12cc	2.61	53.0	119
澱 粉 粕 (酸糖化液)	10.2% 12cc	2.80	56.5	128
糖 蜜	1.2 ^g	2.86	—	130
〃	2.4	3.30	—	150
〃	4.8	3.54	—	161
局方ぶどう糖	2.4	3.94	64.5	180

註 1 配合組成：澱粉粕6g 米糠1.2g、水又は糖液 12cc 殺菌水10cc

2 培養 5日

その結果、工業的に有利に使用される炭素源としては澱粉及び糖蜜が挙げられる。後者に就いては既に照井氏等の報告（担体として穀穀、鋸屑使用）があるが、吾々の目的とする国内産澱粉質資源利用の面から見れば、各種の澱粉質の利用が考慮されねばならないだろう。

澱粉は之を直接担体たる澱粉粕に混合すれば常法仕込みに比べ生酸比 157迄向上されるが、之を酸糖化処理、又は酵素処理すれば之が 188に迄増加し且つ対糖収率が

良く、局方 glucose の例と略必適する結果が得られた。切干甘藷又は澱粉粕の夫々酸糖化溶液の使用は何れも使用の価値が乏しい様である。此等澱粉質物の利用方法の点に就いては更に検討を続けてゐるので後報する予定である。

3. 中工試験の結果

以上得られたシャーレ試験の結果に基いて既報の如く指宿分場に於ける試験工場の施設を利用して澱粉粕 120kg 単位の中工試験を実施した。用いた糖源としては市販の甘藷並澱粉をそのまま添加澱粉粕と共に水で一夜浸漬する方法を採った。培養容器は 36×50×6cm の角型珪藻ベットにトタン製の蓋をつけたものを用いた。澱粉粕 120kg に就いて此の容器 200 枚を要する。又培養槽は前報のものをそのまま使用し、6 坪の罐室に此のベット約 500 枚を収容し得た。供試澱粉粕の全糖 54.1%、並澱粉 89.2%。

その仕込結果として 7 例を第 10 表に示した。

第 10 表

No.	澱粉粕 kg	米糠 kg	澱粉 kg	浸漬水 L	蒸煮後 水 L	出 量 kg	全ク エン 酸 %	全ク エン 酸 kg	対 糖 収 率 %
1	120	24	48	250	200	505	13.6	68.6	63.6
2	120	24	36	220	200	496	11.04	54.7	56.3
3	120	24	24	200	150	488	11.07	54.0	62.5
4	120	20	0	180	70	362	14.1	51.0	78.5
5	120	24	48	250	200	615	10.1	62.0	57.5
6	120	24	36	200	220	554	12.28	68.0	70.1
7	120	20	0	180	80	304	14.1	42.0	64.6

註 1 培養 5 日

2 使用ベット 200 枚

以上の中工試験の結果から次の諸点を明らかにした。

- (1) 密閉ベットによる本醗酵様式では、前報の如く培養 5 日に於いても尙 Contamination の例を認めなかつた。但し引き続き実施した試験では接種室に於ける空気汚染が時々認められた。
- (2) 略々同数のベットを用いた 7 例の結果から常法化込みと澱粉添加仕込みとの生産量の比は 1.3~1.6 倍に向上した。然し乍ら対糖収率の面から澱粉の使用量

は原料粕に対し 40% では稍々収率が低下することから 30% 若しくは之以下の使用が経済的に安全ではなからうか。又原料コストの面を考慮に入れず生産量の点のみから見ればベット 1 枚当 400~450g のクエン酸石灰を生産し現在の工場床面積 24 坪当 2,000 枚のベットを収容し得るから日産 800~900kg の生産も可能となる。

- (3) 表示した全クエン酸は分析値より算出した数字であるが、実際に得られた固型醗を抽出した場合極めて多湿の湿浸醗である為、前報に述べた如き向流抽出では抽出歩留が低く全クエン酸の 80% 以上の回収は困難があつた。此の点は今後更に検討する予定である。
- (4) 培養室の室温の調節並に上下各処の温度差を防ぐ目的で多翼式送風機を設置して室内空気を強制的に循環させることは有効であつた。即ち各ベット間の生産のフレは明らかに減少した。
- (5) ベットの大きさの点に就いては前報の約 2 倍容のものを用いた此の試験の結果からは生産に影響は及ぼさなかつたので工業生産に於いては取扱上又価格の点から此の大きさは適當であらう。
- (6) 種菌接種の一方法として蒸煮冷却した原料を直径 6 吋長さ 12 の 16r.q.m 廻転のラボンコムベアを通し乍ら孢子懸濁液をスプレーしたが充分その目的は達せられる。然し乍ら原料のチャージ、ベットへの盛込、コムベアの殺菌等未解決の問題が多い。
(此の試験に助力された久保田章君に謝意を表す)

以上の実験で得られた結果を要約すれば、澱粉粕を担体として之に糖液を保持させて醗酵させる本法は Cahn の採用した所謂半固形醗酵と略々同様な型式であつて、極めて湿潤多湿の固形醗となる為我國古来の所謂一般の醗とは著しくその趣を異にするが澱粉粕パルプの高度の保水性の為醗酵は外觀的にも醗様の固形状態で営まれる。従つて液体静置培養に比較して醗酵は短時に高収率を以て終了することが出来る。

澱粉粕を主原料とするクエン酸製造を工業的に実施する場合種々の醗酵型式が考えられるが既に述べた如く原料の糖濃度の低い等、又固形物成分或は種々の阻害的な無機成分の多い等から液体培養の型式は現在尙検討すべき余地が多い。一方固形培養に於いても原料の単位容量当りの生産量が低く大量生産の点から之が隘路となつてゐる事を考えれば本実験で採用した糖液との併用による固形培養では之等の欠点が或程度是正されるものと考えられる。然し乍ら現行の木製醗蓋による生産では直ちに此の方法は採用され難く且つ経済的に更に有利な糖源の選択並にその処理方法等の問題があるが此の点は更に検討

を加える予定である。

4.2.16 題目 クエン酸の工業的生産に関する 研究 (第15報)

澱粉粕を原料とする深部培養

川原 一、松久保好太郎、
浜崎 幸男

〔目的〕

既に前報に於いて澱粉粕を原料とし之にメタノールを併用する浮動培養に就いて検討したが、メタノールの使用は実際の工業的応用の上からは経済的に必ずしも得策とは考えられないのでその後菌株の検索によつて得られた黒黴の一株 (A-945-KN) を用い澱粉粕培地に就いて基礎的な問題を解明すると共に工業化の爲の資料を得る目的で 200立タンクによる中工試験を行った。

〔概要と成果〕

1、種菌の育成について

先づ孢子生産に適する培地の検索を行い天然物培地合成培地を比較検討して押麦、馬鈴薯、橙果肉等が優れ合成培地では之が劣ることを認めた。

次に孢子の接種濃度により生酸にフレの多いことが認められ、之が液内菌糸の形態と関連あることを知った。最適孢子濃度は $10^5 \sim 5 \times 10^4$ であることを知った。又孢子を前培養して接種源とする時発芽時の栄養要求、PHの影響等を調べると共に発芽培地に添加された Agar の効果に就いて検討を加え培地の粘度が菌体の形態に影響する因子であることを認めた。又前培養の適当な使用量を決めた。

2、生酸培地の組成について

澱粉粕濃度の適値として12% (仕込全糖約8%) が得られ、之と澱粉とを併用すれば収率の低下が認められた。N-源として種類による影響は殆ど無いが確実ならば 0.04% (添加N量約10mg) 米糠ならば0.5%で充分である。PO₄源は全く添加の必要は認めない。CaCO₃は0.3~0.4%の添加が生酸に適する。メタノールの添加はかえつて生酸を阻害することを認めた。

蒸着条件として各種の無機酸を用いその濃度、圧力時間等の影響を調べた結果、硫酸を対澱粉粕1~1.5%、圧力20ポンド、20~30分の蒸着条件が適当と認められた。

3、醗酵収率に影響する諸因子について

以上の実験に於いて深部培養に於いては菌体形状が明らかに生酸と関連あることを認めたので培養の好氣的条

件等の影響を勘案し乍ら種々の高粘性物質を添加した場合の菌体形状と生酸との関係について検討を加え孢子発芽時の所謂 Cell-Clumping の現象を観察し之が各種菌糸塊に成長する過程を顕微鏡的に解明して培地の Viscosity がその一因であることを明らかにした。又此の面から培地の攪拌の型式及び廻転数並に邪魔板の影響等をジャーファーマンターを用いて検討し之等の条件も又菌体形状に関連あることを知った。次に二次培養によつて供試菌株の生酸に適する菌体形状を調べた。

4、以上の基礎試験に基いて

200立容ステンレス製タンクを製作し、之によつて一定攪拌数の下に過氣量を変へた場合の生酸試験を実施した。攪拌210r.p.m.通氣量対モロミ $1/2$ /min. の条件で6日目59.3%の収率で、培養モロミ中クエン酸濃度4.66%に達した。

(本報の一部は昭和31年日農化大会で報告、詳細は昭和32年5月鹿工試報告として発表した。)