Aspergillus niger に依る糖蜜のクエン酸醱酵に関する研究

滋 賀 達 二* (東京大学農学部醱酵学研究室)

昭和 27 年 9 月 5 日 受理

Studies on Citric Acid Fermentation of Cane Molasses by *Aspergillus niger*.

By Tatsuji SHIGA (Lab. of Fermentation, Dept. of Agr. Chem., Univ. of Tokyo)

著者は糖蜜の利用を目的として之を炭素源とする *Aspergillus niger* による深部クエン酸醱酵に就て若干の実験を行つたので、蔗糖を用いた実験と共に簡単に報告する。

実 験 方 法

A. 培養条件 接種源 麹エキスを寒天上に発育した *A. niger* の孢子 3 白金耳を滅菌蒸溜水 5cc に懸濁させ、其の 0.2~0.3cc を各フラスコに接種した (約 20~100 万/100cc)。

培養容器及び液量：500cc 容の肩付振盪フラスコに 60cc 又は 80cc の培養液を入れた。フラスコ 2 本宛並行。

振盪条件 振幅 7cm, 1 分間 145 往復の振盪機を使用した。

培養温度 培養室内の温度調節が不完全の為盛夏には 33° 位の事もあつたが、27~31° を普通とした。

培養基：炭素源として蔗糖、糖蜜いずれを使用する場合にも、全糖が蔗糖 (還元力) として 14% となる如く炭素源の濃度は一定とし、之に種種の副成分を配合した。

B. 全酸及びクエン酸の定量 全酸度は培養濾液 0.5cc を著者の方法⁽¹⁾に依り採り 0.1N NaOH にてフェノールフタレインを指示薬として滴定し、クエン酸として表わし、純クエン酸は培養濾液 2~10cc を用い、ペンタブロモアセトン法に依り定量した。尙此の場合糖蜜培地についての回収実験に於て霜⁽²⁾と同じく、理論値の 93% を得たので此の factor 1.075 ($=\frac{100}{93}$) を掛けてクエン酸の生産量とした。

C. 使用菌株 本実験の大部分には *A. niger* 700a** を使用し、実験中 American Type Culture Collection より *A. niger* A.T.C.C. No.1015, No.9142, No.10577 の 3 株、又 Wisconsin 大学 M. J. JOHNSON 教授より *A. niger* 72-4 (No.1015 より得られたもの) 合計 4 株が当研究室有馬助教授の手許に届けられたので之等も比較使用した。

実 験 結 果

I 蔗糖を炭素源とした実験

Table 1. Experiment with Chemical Extra Pure Sucrose.

Medium	SHU and JOHNSON			OZAKI and TAKESHITA			OZAKI and TAKESHITA		
	700a	ATCC 10577	72-4	700a	ATCC 10577	72-4	700a	ATCC 10577	72-4
Strain									
Mycelial growth on 4th day	white pulp		yellow pellet		white pulp		white pulp		dark yellow pellet
%	8.9	12.7	3.0	15.7	45.4	3.0	12.7	45.4	10.9
Acid yield to available sugar				CaCO ₃ 0.2g added			CaCO ₃ 0.4g added		
				Citric acid 45.0			Citric acid 45.7		
				Total free acid 44.2			Total free acid 44.2		
				Oxalic acid (-)			Oxalic acid (-)		
				CaCO ₃ 0.4g added			CaCO ₃ 0.2g added		
8th day	13.9	13.9	7.9	17.6		4.2	13.9	37.0	
10th day	12.1	12.7	6.0	17.6	Total free acid 30.9	5.4	17.6	Total free acid 44.8***	12.1
					Citric acid 38.0			Citric acid 51.0	
11th day								Total free acid 40.1	
Oxalic acid at 10th day	+	+	-	+	++	-	+	-	-
Dry mycelium at 11th day g/l	28.2	29.4	28.6	29.3	31.1	27.5	19.2	26.3	24.7

* 台糖株式会社

** 昭和薬品竹下氏より恵与されたもの

*** Total Free Acid 44.8% に 第5日 0.4g, 第7日 0.2g 合計 0.6g の CaCC_3 を添加したのを計算に入れ, Broth の量を 50cc になつたものと仮定すれば Total Acid は 56.8% に相当し, Citric Acid 51.0% は其の 90% に相当する.

A. 化学用最純蔗糖を用いた実験 P. SHU and M. J. JOHNSON⁽³⁾ 及尾崎・竹下⁽⁴⁾の培地並びに後者の培地の無機塩のみを $\frac{1}{2}$ に減じた培地に依る培養試験の結果は Table 1 の通りであつた.

即ち純粋な蔗糖では A. T. C. C. 10577 は非常に良好なクエン酸生産性を示し, CaCO_3 に依る部分中和⁽⁵⁾を行い尾崎・竹下の培地で第7日に対糖 45% のクエン酸を生産した. 又此の培地の無機塩類のみを $\frac{1}{2}$ に減じた培地では生酸は遅いが, 第10日に 51% のクエン酸を生産した. 之に対し SHU and JOHNSON 培地では 13.9% で甚だ生酸は少かつた. 又尾崎・竹下培地ではクエン酸の最高になる迄は蓆酸の生産が見られず, 減少すると共に検出された. 以上に依り SHU and JOHNSON 培地では無機塩, 特に KH_2PO_4 が多過ぎ, 又尾崎・竹下培地でも過多である事が分る.

B. 市販白糖を用いた実験

(1) 白糖を其のまま用いた場合 本実験に使用した白糖は total N 0.00339%, ash 0.04%, Fe^{++} trace のものであつたが, 之に依り SHU and JOHNSON 培地で全酸 17.5%, citric acid/tot. acid の比は 51.5%, 尾崎・竹下培地ではそれぞれ 16.3%, 64.3% であつたが, 此の無機塩を $\frac{1}{2}$ にした場合は 24.8%, 80.8% であつた.

(2) イオン交換樹脂 Amberlite IR-120 で脱塩した場合 此の場合 No. 10577 が 22.4%, 700a が 20.0% の生酸を示したに過ぎなかつた.

II. 精製糖蜜を炭素源とした実験

本実験に使用した精製糖蜜(国内製糖工場にて副生される糖蜜)の分析結果は Table 2 の通りであつた.

Table 2. Analysis of Molasses Used.

Total Sugar	52.6 %	PO_4^{---} 180mg/l	Sp. Wt 1.34(20°C)
Total Nitrogen	0.0319%	Fe^{++} 28.4	
Ash	2.47 %	Ca^{++} 9.3 g/l	

(1) 此の糖蜜を何等精製せず使用した実験では対糖 19.5% の生酸に過ぎなかつた.

(2) H_3PO_4 及 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ に依り精製した場合: 糖蜜 800g に蒸留水 1,200cc

を加え, 之に conc. H_3PO_4 16cc を加えて pH 2.8 とし, 之に石灰乳を徐徐に加へ pH 7.4 とし 70° に20分加温後硅藻土 12g, 活性炭 6g を加えて減圧濾過し濃縮したものをを用いた. 此の分析値は total sugar 382mg/g, ash 11.9mg/g, Fe 77/g, P_2O_5 507/g であつた. 其の結果を Table 3 に示す.

Table 3. Effects of H_3PO_4 and $\text{Ca}(\text{OH})_2$ Purification of Molasses on the Citric Acid Fermentation.

Medium Composition g/l	No.	1	2	3	4	5	6	7	8
	Sucrose	140	—	—	—	—	—	—	—
	Molasses	—	366	366	366	366	366	366	366
	NH_4NO_3	2.5	1.0	1.0	1.0	0.5	0.5	0.3	0.3
	KH_2PO_4	3.0	0.3	0.3	0.3	0.15	0.15	0.15	0.3
	KCl	—	1.0	—	1.0	0.5	0.5	0.5	1.0
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5	0.25	0.25	—	0.125	0.125	0.125	0.125
	CaCl_2	—	3.0	3.0	3.0	1.5	3.0	3.0	3.0
	Fe^{+++} (mg/l)	0.8	—	—	—	—	—	—	—
	Initial pH	3.4							
	Mycelial Growth	Pulp							
	on 6th day	17.5	22.4	24.8	23.6	24.8	23.6	20.0	21.2
	" 7 "	11.5	10.3			17.5			
	" 8 "	26.0	13.9	30.9	29.0	18.7	27.8	22.4	23.6
	" 10 "	20.0	18.2	31.4	30.9	20.2	28.4	25.4	24.2
	" 11 "	20.0	18.2	32.0	30.9	21.2	29.6	26.0	24.8
	" 15 "	16.3	22.4				24.8		

即ち No.2 の組成に於て全酸 32.0%, citric acid/total acid の比は 93% を示し, 上表で明かな如く消泡剤として大豆油を添加するとクエン酸の生産は明かに阻害される. 即ち無添加の場合の60~80% の生酸に止り citric acid/total acid の比も少なくなり蓆酸も少量検出された. アメリカでは 1 octa-decanol を大豆油に溶解したものを使用しているようであるが⁽⁶⁾, 工業化の場合には必ず消泡剤を必要とするのであるから此の点も解決する必要がある.

										上記と同一方法に依り処理した糖蜜（但し石灰乳に依り pH を 7.6 にした）(Total Sugar 19.2%, Fe ⁺⁺⁺ none, Fe ⁺⁺ +3.7γ/ml, PO ₄ ---trace であつた)を用いて NH ₄ NO ₃ , KH ₂ PO ₄ の最適濃度及 Fe ⁺⁺ Fe ⁺⁺⁺ を特に多量添加した
Ratio of Citric/Total acid	on 7th day	65.0 88.0 69.5			70.0 90.0 78.4					
on 10 "	62.5	90.5	93.0	78.3	81.7	88.0	78.5	73.2		
Oxalic acid reaction	++	+ - 3.28			* + - 10.6					
Residual sugar		20.7	2.92	3.6	5.5	11.3	13.3	12.0		
20hr. after inoculation, 0.2Vol% soybean oil was added.										
* " 0.4Vol% "										

場合の影響及び CaCO₃ で酸酵中に部分中和する事の影響を見る為に Table 4 の如き実験を行つた。

Table 4. Effect of Medium Composition on the Production of Citric Acid.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Medium Composition	Molasses	g/l	730	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃
	NH ₄ NO ₃	〃	1.0	〃	〃	1.0	〃	〃	0.8	〃	〃	1.2	〃	〃	1.0	〃	〃	1.0	〃
	KH ₂ PO ₄	〃	0.3	〃	〃	0.15	〃	〃	0.15	〃	〃	0.3	〃	〃	—	—	—	0.3	〃
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	〃	0.25	〃	〃	0.25	〃	〃	0.25	〃	〃	0.25	〃	〃	0.25	〃	〃	0.25	〃
	CaCl ₂	〃	3.0	〃	〃	3.0	〃	〃	3.0	〃	〃	3.0	〃	〃	3.0	〃	〃	3.0	〃
	Fe ⁺⁺	mg/l.	—	20	—	—	20	—	—	20	—	—	—	—	—	—	50	100	200
	Fe ⁺⁺⁺	〃	—	—	—	—	—	—	—	—	—	20	—	—	20	—	—	—	—
	Initial pH	3.4																	
Partial Neutralization by CaCO ₃		— — + — — + — — + — — + — — + — —																	
Mycelial Growth		Pulp and Pellet																	
Acid Yield to Available Sugar %	5th day Total Acid	18.7	18.7	17.6	21.2	16.6	18.7	23.6	20.0	17.6	23.6	16.6	18.7	13.8	11.5	9.0	17.6	22.4	15.2
	CaCO ₃ added g	—	—	0.188	—	—	0.197	—	—	0.186	—	—	0.140	—	—	0.06	—	—	—
	6th " CaCO ₃ added g	—	—	0.252	—	—	0.187	—	—	0.184	—	—	0.201	—	—	0.09	—	—	—
	7th " Total Acid	24.0	28.9	?	15.4	25.2	?	27.7	26.4	?	31.4	22.8	?	16.6	16.0	?	21.5	26.4	27.0
	Total Acid	30.9	30.0	(18.7)	34.5	32.7	(40.6)	33.9	29.0	(31.5)	33.3	28.4	(20.0)	27.8	23.6	(24.8)	25.4	32.6	26.6
	9th " Citric Acid %	23.3	29.7	17.3	26.8	30.4	45.4	29.8	27.1	35.7	29.6	26.1	21.6	25.2	21.4	26.1	24.3	32.6	25.4
	Cit Acid	75.5	99	?	78	93	?	88	93.5	?	89	92	?	90.5	90.5	?	95.5	100	95.5
	Tot. Acid	C.A. 52.0																	
	11th " Total Acid	27.2	29.0	(17.5)	33.8	32.0	(44.0)	30.8	29.4	(34.4)	29.9	25.0	(17.5)	33.2	30.8	(29.6)	26.0	32.0	23.6
	Oxalic Acid	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

This experiment was carried out with one flask respectively.

其の結果は表示の通りで NH₄NO₃ は 1.0g/l, KH₂PO₄ は 0.15g/l 附近が最適と見られ, Fe⁺⁺, Fe⁺⁺⁺ (塩化物) の影響は予期に反して 20mg/l を加えても無添加のものに比して全酸度に於てやや減少したが, Citric Acid/Total Acid の比は無添加の場合よりも高く 90~99% を示した. 又 Fe⁺⁺ を極めて多量添加した場合にも大した生酸の減少は見られず Citric Acid/Total Acid の比は 95~100% に達したのである. CaCO₃ に依る酸酵中の部分中和は有効で NH₄NO₃ 1.0g/l, KH₂PO₄ 0.15g/l の場合, 第9日にクエン酸 45.4%, 第11日に 52.0% を生産した. 又 NH₄NO₃ 0.8g/l でも部分中和した場合 35.7% のクエン酸を生産した.

(3) 糖蜜の Feeding 及び CaCO₃ に依る部分中和法: 上記の実験に於て最高 52% のクエン酸生産を見た培地

Table 5. Effect of Partial Neutralization by CaCO₃ and Feeding of Molasses.

Method of CaCO ₃ Addition and Feeding of Molasses		Control	CaCO ₃ added daily from 4th day	CaCO ₃ added daily from 6th day	CaCO ₃ added daily from 4th day and molasses added daily from 6th day	CaCO ₃ added daily from 6th day and molasses added daily from 8th day
Acid Yield to available sugar %	on 8th day	18.7	17.5	15.1	12.7	14.5
	on 10 "	22.5	26.1	18.8	18.2	17.6
	12th day Total Acid	24.2	28.6	16.3	18.7	12.7
	Citric Acid	19.8	28.5	15.9	10.4	11.7
	C.A./T.A.	82%	99.5	97.5	55.6	92.2
	on 14th day	23.6	27.2	20.0	26.0	15.1
	on 16 "	20.0	28.4	17.5	29.6	15.7
	Total CaCO ₃ added	0	0.399g	0.280g	0.320g	0.270g

組成を用いて CaCO_3 の部分中和の効果を確認し、又糖蜜の feeding の効果を併せて試験する目的で実験した。糖蜜は全糖 14%, pH 7.6 のものを毎日 5 cc 宛添加した。其の結果は Table 5 の如く全般に効果が見られず、feeding に依り生酸が遅延し16日迄徐々に生酸し、然も 16~29.6% の低位を示した。更に詳細な条件の検討を要すると思う。

(4) $\text{H}_3\text{PO}_4\text{-Ca(OH)}_2$ 精製後イオン交換樹脂にて脱塩した糖蜜の酸酵

(A) Amberlite IR-120 に依る処理：上記(2)と同一方法にて精製した糖蜜を陽イオン交換樹脂 Amberlite (5) ~ (9) IR-120 の塔を、温度 22°, 空間速度3で通過せしめた通過液 (pH 1.2以下, Fe^{++} 痕跡, PO_4^{---} 反応無し) を用いて、全糖 140, NH_4NO_3 1.0, KH_2PO_4 0.15, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.25, CaCl_2 3.0, CaCO_3 4.0g/l (pH調節用), Fe^{++} 6 mg/l の培地を作り培養した結果 700a 株にて対糖 21.3%, 其の他の菌株では生酸は更に少かつた。

(B) Amberlite IR-120 及び Amberlite IR-4B に依る処理：22° にて空間速度15で IR-120 を通した pH 1.4 迄の通過液を同一条件で IR-4B を通し pH 6.2 迄の通過液を採り、700a 株を用いて行つた培養結果は Table 6 の通りで IR-120 単独処理に於けるよりも 20~30% の生酸増加を見たが、最高 27.9% のクエン酸生酸に停つた。

Table 6. Effect of Demineralization by Amberlite IR-120 and IR-4B.

Medium Composition		No. 1		No. 2		No. 3	
		g/l ← as	Total	Sugar	140 →		
	Molasses	g/l					
	NH_4NO_3	1.0		1.2		1.2	
	KH_2PO_4	0.15		0.15		0.20	
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.25		0.25		0.25	
	CaCl_2	3.0		3.0		3.0	
	Fe^{++}	6		6		6	
	Initial pH	3.2		3.2		3.2	
Acid Yield to available Sugar	on 7th day	12.1		15.1		12.1	
	" 9 "	21.2		21.2		17.5	
	" 11 "	18.7 (19.6)	23.6 (24.8)	20.0 (17.5)			
	" 13 "	24.2 (26.8)	24.8 (27.9)	21.2 (24.0)			
Dry Mycelium	g/l	16.8		16.6		19.3	
	" 7 "	23.1		26.7		27.0	
	" 14 "						
Oxalic Acid Reaction		—		—		—	

The value in () indicate citric acid.

Partial Neutralization with CaCO_3 was carried out.

Table 7. Effect of CH_3OH on Citric Acid Production(1)

Acid Yield to available Sugar				Volume % of CH_3OH added				
				Control	0.1	0.5	1.0	2.0
Titratable Acidity	on 7th day	13.9	12.1	11.5	10.3	12.1		
	" 9 "	17.5	17.5	18.5	19.7	23.6		
	" 11 "	21.2	20.0	21.5	24.5	28.4		
	" 13 "	19.6	17.6	19.4	22.3	26.7		
Citric Acid	" 7 "	26.3	25.3	25.7	30.3	35.1		
	" 9 "	17.6	16.3	15.5	15.1	13.7		
	" 11 "	23.9	21.1	21.8	22.1	21.5		
	" 14 "							

Partial neutralization with CaCO_3 was carried out.

結果を示したので、無処理の糖蜜を用いて同一配合の培地で添加方法を種種変えて実験した其の結果は Table 8 の通りで、生酸促進の効果は認められなかつたが、Citric Acid/Total Acid の比は全般に極めて高く 97~98.5% を示した。菌体の發育に就ては表示の如く初期に 2% 以上添加した場合菌体の發育は遅いが後期に於ける發育は逆となり、 CH_3OH 添加量の多い方が乾燥菌体量は多くなつた。又同量添加した場合を比較すると初期 (24時間以内) に添加した場合の方が遅れて添加した場合よりも菌体増加の影響は大きかつた。又前者の場合菌体は微細 Pellet になつたが後者の場合は pulp 状に發育した。

(5) CH_3OH を培地に添加する実験

クエン酸酸酵の際培地に CH_3OH を 1~3 % 添加するとクエン酸の生産率が上昇し、且つ無処理の糖蜜、工業用グルコース、澱粉糖化液等が特別の精製を行わずに使用し得るとの速報⁽¹⁰⁾ があるので之を検討すべく実験を行つた。

(A) $\text{H}_3\text{PO}_4\text{-Ca(OH)}_2$ 精製糖蜜の場合：上記最適培地即ち全糖 140, NH_4NO_3 1.0, KH_2PO_4 0.15, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.25, CaCl_2 3.0 g/l, initial pH 3.4 を用いて、接種と同時に最純 CH_3OH を 0.1, 0.5, 1, 2 Vol % 添加して培養した。其の結果は Table 7 の通りで純クエン酸の生産率は control の 26.3% に対して 2

% 添加の場合 35.1% で 34% の増加率を示した。尚 CH_3OH を添加すると初期の菌体の發育が遅れ 2% 添加の場合には約 2 日遅れていた。

(B) 無処理の糖蜜の場合

上記の実験に於て CH_3OH を 2% 添加した場合かなり好

Table 8. Effect of CH₃OH on Citric Acid Production (2)

	Control	Method of Addition of CH ₃ OH					
		2.5Vol%		2.0Vol%		1.5Vol%	
		at Inoculation		at Inoculation		at Inoculation	
Mycerial Growth	on 2nd day 5th Pulp	++		-		+	
		Small Pellet		Small Pellet		Small Pellet	
Acid Yield to available Sugar %	on 6th day 9 12	12.1 16.2 17.6	10.3 13.9 15.2	11.5 13.9 12.7	10.3 10.3 13.3	11.5 12.7 12.7	10.3 10.3 12.1
Ratio of Citric Acid/Total Acid at 12th day %		99.5	97	98.5	98.5	97.7	97
Dry Mycelium at 12th day g/l		28.7	39.2	36.2	33.4	36.9	32.4

考 察

以上の如く蔗糖を炭素源とした場合も、精糖蜜を用いた場合も共に最高クエン酸収率は対糖 51~52% で、従来の報告に比して高いとは云えない。本実験に於ては使用菌株は与えられたものを其のまま使用し、糖蜜培地に対する適株の選択、馴養、或は人工変異に依る改良等は行わなかつたが之等も生酸率の低かつた原因と考えられる。工業生産を行う場合には此の点を更に研究し適株を得る事が先決問題と考えられる。又生酸促進物質の研究も重要であり工業用水に就ても充分検討すべきである。

要 約

蔗糖及び精製糖蜜を炭素源とする *A. niger* に依るクエン酸醱酵を行い培地組成、炭素源の精製度及び菌株の差異等に就て実験し次の事を知つた。

1. P. SHU and M. J. JOHNSON 及び尾崎・竹下の培地は共に無機塩の量が過多の為クエン酸生産が少く、無機塩を減せば生酸は向上する。
2. 市販蔗糖では最高全酸 24.8% (対糖)、化学用最純蔗糖では CaCO₃ に依る部分中和を行い最高51%のクエン酸を得た。
3. 使用菌株に依り生酸に大差あり、菌株選択の重要性を知つた。
4. 無処理の精製糖蜜はクエン酸醱酵には全く不適であつたが、H₃PO₄ 及 Ca(OH)₂ に依り更に精製した糖蜜を用い最高 52% のクエン酸を得た。
5. 消泡の目的で大豆油を添加すると生酸を阻害し、又クエン酸の比率を低下する事を認めた。
6. Fe⁺⁺ 又は Fe⁺⁺⁺ を添加して生酸阻害を見たが顕著ではなく Citric Acid/Total Acid の比はむしろ高くなつた。
7. CaCO₃ に依る部分中和は有効であつた。
8. イオン交換樹脂に依り精製した糖蜜では文献記載程のクエン酸は生酸されなかつた。
9. 糖蜜を feeding する方法は醱酵を遅延し無効であつた。
10. CH₃OH 添加の効果は H₃PO₄-Ca(OH)₂ 精製糖蜜の場合は有効、無処理の糖蜜では無効であつた。

終りに塩み御指導を賜つた坂口謹一郎教授、有馬啓助教授に深謝すると共に、菌株を恵与された Wisconsin 大学 M. J. JOHNSON 教授、A.T.C.C. 並びに昭和薬品の竹下氏に感謝致します。又実験に種種便宜を与えられ発表を許可された台糖株式会社に感謝致します。

- (1) 滋賀, 有馬: *J. Antibiotics*, 5, 211 (1952)
- (2) 霜: 農化, 16, 761 (昭15)
- (3) P. SHU and M. J. JOHNSON: *Ind. End. Chem.*, 40, 1202 (1948)
- (4) 尾崎・竹下 農化講演会, 昭和26年12月。
- (5) E. O. KAROW and S. A. WAKSMAN: *Ind. End. Chem.*, 39, 821 (1947)
- (6) L. B. SCHWEIGER, et al.: U. S. P. 2,492,667. Dec. 27, 1949.

- (7) Miles. Lab. Inc. : Brit. Pat. 572,383. Oct. 5, 1945
(8) " : U. S. P. 2,492,673. Dec. 27, 1949
(9) S. A. WAKSMAN *et al.* U. S. P. 2,394,031. Feb. 5, 1946
(10) *Chem and Eng. News*, 29, 3288 (1951)

Summary

Effects of medium composition, purity of sucrose or molasses, and strains on citric acid fermentation were studied, and following results were obtained.

1. Salts concentration of SHU and JOHNSON, and OZAKI and TAKESHITA medium were too high for citric acid fermentation and when salts concentration was reduced the acid production increased.
2. By commercial sucrose the yield of total acid was 24.8% on available sugar and by extremely pure sucrose citric acid yield was 51%.
3. Selections of strains proved to be extremely important on the acid production.
4. Untreated molasses was not suitable for citric acid fermentation, but maximum citric acid yield of 52% on available sugar was obtained when molasses was purified by coprecipitation method using H_3PO_4 and $Ca(OH)_2$.
5. Addition of soybean oil as antifoam retarded the acid production and reduced citric acid yield.
6. Inhibition of acid production by Fe^{++} and Fe^{+++} was not evident, and citric acid/total acid ratio was somewhat higher when Fe^{++} and Fe^{+++} were added.
7. Partial neutralization method using $CaCO_3$ showed a good effect.
8. Higher citric acid yield as in some literature could not be obtained in our experiment, in which purified molasses was treated by ion exchange resin.
9. Feeding of molasses prolonged the fermentation period, thus showed no good effect.
10. Effect of methanol on citric acid production was recognized when purified molasses was used, but not with unpurified one.

亜硫酸パルプ廃液の酒精発酵に関する研究 (第 2 報)

酵母の弱化及び糖蜜処理によるその強化について

七 字 三 郎, 御 園 光 信 (工業技術庁発酵研究所)

昭和 27 年 8 月 28 日

Studies on Alcohol Fermentation of Sulfite Waste Liquor. Part 2.

On Degeneration of Yeast and the Activating Effect by Molasses Treatment.

By Saburo SHICHIJI and Mitunobu MISONO (Fermentation Research
Institute, Agency of Industrial Science and Technology)

前

説

亜硫酸パルプ廃液 (SWL) の酒精発酵は他国では MELLE⁽¹⁾, KEUSSLER⁽²⁾, SCHOLLER⁽³⁾ 等の所謂酵母の re-use によるものが、又吾国では RÖMER 等の改良型⁽⁴⁾⁽⁵⁾と考えられる酵母懸垂式が採用せられているが、尙時間的に収率的に殊に酵母管理面に難点なしと云えない。この点 ADAMES⁽⁶⁾等の増殖適期利用の方式は合理的であるが糖失及び栄養多要から SWL には好適とは思えない。先に著者等⁽⁷⁾⁽⁸⁾は広く酒精発酵に於ける特に酵母の消長に関し発酵醗に対するその耐性を論じた。又 SWL 酒精発酵の栄養、接種量、pH 及び前培養等の諸影響をも予め明らかにしたが⁽⁹⁾、低糖乍ら低栄養にして阻害物質の多い SWL の酒精発酵について特にその酵母の増殖及び醗への耐性には問題が多いと考えたので之等を究明して、更にそれらの影響及び対処について実験して、二、三の知見