- (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

を得た。之等は SWL 酒母育生上, 連続上, 或は本発酵上, 又その酵母懸垂及び殊に re-use 連続発酵上に関係するもの多いと考えられるのでその要点を報告する。

実

験

1. 亜硫酸パルプ酒精発酵に於ける酵母の耐性 低栄養にして阻害物質の多い SWL 酒精発酵にあつては殊に後発酵期以後の酵母の弱化, 死化への影響は大であると思われるので, 斯かる SWL 酵母については前報⁽¹⁰⁾でその増殖, 発酵力優れ且 SWL 耐性の大きなものを撰択したが, 尙発酵期以後にその弱体化が著しいのは殊に酵母懸垂又は re-use による連続発酵には問題が大きいと考える。

本実験では SWL の単槽発酵と懸垂式連続発酵の流動液中の酵母の消長より之等の弱体化事象を明らかにした。

当実験に於ける共通的なものは次の通りである。

SWL — R. P. 廃液 (B 工場). 全糖 3.558%, 発酵性糖 (F.S.) 2.380%, pH5.2 (中和調整). 使用酵母: —K-A-1 株⁽¹⁰⁾. 使用前次の如き前培養をなす (麹汁→麹汁. SWL 半半培地→SWL →使用). 酵母数測: —Thoma's Haematometer, 死化酵母は FINK⁽¹¹⁾ 法による. 糖測定法 —逸見氏⁽¹²⁾の Semi Bertrand 法. 接種酵母量: 一定数接種.

実験 1 SWL 単槽発酵に於ける酵母の消長 現行の懸垂発酵と re-use 発酵の酵母密度のほぼ中位と考えられ又一応工業的に容易と考えられる $50 \times 10^6/\text{cc}$ 程度の接種密度に於けるその単槽発酵長時間の酵母増殖と死化経過を測定した。

方法: 接種量 $50 \times 10^6/\text{cc}$ (死化率 5.0%). フラスコ 72 hrs 発酵.

成績: 酵母の消長及び発酵の経緯を一括 Fig. 1 に示す

Fig. 1. Yeast Condition in One Batch Fermentation (High Inoculum)

- I Total Yeast Curve
- II Fermentation Curve
- III Dead Yeast Curve

Table 1. Yeast Counts in Flowing S. W. L. Mash on Suspension-type Continuous Fermentation.

No. of Works	No. of Batch of Continuous F.	Total-yeast ($10^6/\text{cc}$)	Dead-yeast Ratio (%)	Residual Sugar (%)
A	the 1st	7.60	10.5	1.22
	2nd	7.20	8.8	0.95
	3rd	8.60	7.8	0.84
	4th	10.00	15.2	0.76
	last	8.00	17.5	0.75
B	the 1st	4.52	9.7	1.43
	2nd	4.06	20.6	0.97
	last	4.16	25.9	0.84
"	the 1st	2.92	11.6	—
	2nd	3.28	12.2	—
	last	3.24	21.0	—
"	thd 1st	5.10	9.0	—
	2nd	4.82	19.1	—
	last	5.04	36.1	—

実験 2 酵母懸垂式流動連続発酵に於ける酵母消長 吾国の SWL 連続発酵工場 (A, B 共に懸垂式) のその各槽流動醪について実際工場に於ける酵母の弱体化状態を実測した。

方法: SWL 培地 (A—S. P., F. S 1.92%, B—R. P., F. S 2.24%). 酵母 (A—0-12-1 系, B—K-A-1 系). 発酵槽 (A—140KL×3 基列, B—25 KL×5 基列 2 組). 発酵時間 (A—20hrs., B—32 hrs.) 各槽よりの溢流醪中の酵母を試験する。

成績 A, B 二工場の連続発酵各槽醪中の酵母密度及び死化率の実測例は Table 1 に示す通りである。

考 察

1) 阻害物質の多い SWL 酒精発酵醪に対する酵母の耐性は, 単槽発酵では後発酵期より死化が加速し, 70hrs. で殆んど全死と云う如く (実験 1), 又実際工場の連続発酵 (懸垂式) でもその流動経過に従い死化率が増加し, それに応じて発酵成績が劣ること (実験 2) 等より, 後発酵期後, 熟成相当醪に接触暴露せられる酵母の SWL 醪耐性の低いことが認められた。

2) 之等は懸垂発酵に於ける酵母の弱体化, 死化従つて増殖力, 発酵力

の減衰招来を示すもので、工場ではスケールによる酵母の膠着も他の一因とは考えられるが現実的にトレーガー更新を必要ならしめる原因となる。酵母 re-use 連続醗酵の場合でも熟成期醗中の停滞酵母はその活力減衰を招く原因となるものと考えられる。

3) 以上より SWL 醗酵では高密度酵母再使用系の懸垂, re-use 等の連続醗酵を適当と考えるが、同時に尙避け難い酵母の弱化傾向に対し何等かの防止管理或は強化処置が望ましいと考える。

2. 亜硫酸パルプ廃液酵母の糖蜜処理による強化影響について SWL の酒精醗酵の遅延は酵母の SWL 醗耐性が関係し増殖の遅滞とその弱化がその一因と推定せられた。その酵母育生上、連醸上、本醗酵上、又特に酵母懸垂及び re-use 連続醗酵上に、酵母弱化の防止或は強化酵母の恢復強化によつて増殖力、醗酵力を常に最適の状態にあらしめるが如き管理或は処理が望ましいと考えられた。

当実験はその処理と考えられる 強化酵母の強化方法に関するもので、かかる酵母を糖蜜の如き工業的栄養培地とも見做される培地との短時間の接触によりその増殖、醗酵力の恢復或は強化が期待出来ることを明らかにしたものである。当研究に於ける実験条件として共通的なものは次の通りである。

SWL: - S.P. 廃液ブロー液 (A工場)。全糖 3.480%, 醗酵性糖⁽¹³⁾ 1.950%, pH 5.2 (中和調整)。糖蜜: 一比島産変性 (原糖蜜に硫酸 0.1%, 硫酸 0.05% 添加)。使用酵母: - K-A-1 株 JOHNSON, HARRIS⁽¹⁴⁾ 等の方法により re-use 馴養したもの。使用前、前培養する (前記)。酵母数測、糖測定法等前記と同じ。醗酵試験法 - MYRBACK 法⁽¹⁵⁾ による CO₂ Vol 測定、或は消費糖測定。30° 恒温室中フラスコ醗酵。接種酵母量: 特記以外は定数接種 (単位 10⁶/cc)。処理酵母による SWL 醗酵試験時の接種量は増殖分をカットして均一にする。

実験1 SWL 強化酵母の糖蜜処理による強化影響 SWL の単槽又は re-use 醗酵で弱化傾向 (死亡率より判定) の高くなつた酵母を糖蜜に短時間接触せしめ、かかる酵母処理が爾後の SWL 醗酵への影響を検討する。

方法: SWL 醗酵より分離した酵母 (死亡率30%) を少量の糖蜜に添加し 30° に 1~3 hrs. の短時間保持せしむるのみ、再び糖蜜より分離水洗してその定量 (数的に又容量的に) を新培地 SWL に接種して爾後の増殖及び醗酵に対する影響を試験した。

成績 強化酵母の糖蜜処理前及び処理酵母による醗酵後の酵母の消長はそれぞれ Table 2 (定数接種時)、Table 3 (定容接種時) に示す。又処理酵母による SWL 醗酵成績はそれぞれ Fig.2 及び Fig.3 に一括して示す

Fig. 2. Activating Effect of the Degenerated Yeast by Molasses Treatment...1 (Fermentation by No. Size Inoculum)

Fig. 3. Activating Effect of the Degenerated Yeast by Molasses Treatment...2 (Fermentation by Vol. Size Inoculum)

実験2 酵母の弱化程度による強化影響の差違 酵母の弱化程度に差違あるものに対する糖蜜処理の影響を試験した。

方法: 被処理酵母の弱化程度は死亡率で 15, 17, 25, 50% の4区分とし処理時間は 0, 1, 2, 3, 4, 6 hr. の6種。接種量は処理時及び SWL 本醗酵時共に 70×10⁶/cc に調整。

Table 2. Activating Effect of Degenerated Yeast by Molasses Treatment.

No.	Division		Yeast before treat.		Yeast after treat.		After fermentation(15hrs) by yeast* treated	
	Treat. media	Treat. hrs.	Total yeast **	Death-yeast ratio	Total yeast	Death-yeast ratio	Total yeast	Death-yeast ratio
O	—	0	48.0	22.3	—	—	81.0	33.8
S ₁	SWL	1	〃	〃	50.4	29.6	77.2	31.6
M ₁	Molasses	〃	〃	〃	49.0	29.0	110.8	30.8
S ₂	SWL	2	〃	〃	48.2	27.4	78.2	35.2
M ₂	Molasses	〃	〃	〃	50.4	23.6	112.4	30.7
S ₃	SWL	3	〃	〃	48.4	28.5	84.4	30.9
M ₃	Molasses	〃	〃	〃	49.0	24.5	107.4	28.7

* Inoculated in same number size of yeast.

** yeast count — $\times 10^6/\text{cc}$

Table 3. Activating Effect of Degenerated Yeast by Molasses Treatment.

No.	Division		Yeast before treat.		Yeast after treat.		After fermentation (15hrs) by yeast* treated	
	Treat. media	Treat. hrs.	Total yeast	Death-yeast ratio	Total yeast	Death-yeast ratio	Total yeast	Death-yeast ratio
O	—	0	121.6	36.7	—	—	132.0	32.1
S	SWL	1.5	〃	〃	126.6	36.0	131.2	35.6
M	Molasses	1.5	〃	〃	121.2	35.3	139.2	28.5

* Inoculated in same volume size of yeast.

Table 4. Comparison of Yeast Activating Effect depend on the Difference of Degeneration Degree (Experiment for 25% Death Rate Yeast)

No.	Division		Yeast before treat.		SWL-fermentation by yeast treated (CO ₂)						Yeast after ferment.	
	Treat. media	Treat. hrs.	Total yeast	Death-yeast ratio	1hr.	2〃	4〃	6〃	8〃	10〃	Total yeast	Death-yeast ratio
1	—	0	70.0	25.7	0.6	1.4	3.0	5.8	9.2	14.6	79.2	50.8
2	Molasses	1	〃	〃	4.3	8.9	18.3	26.0	26.6	27.0	80.2	42.2
3	〃	2	〃	〃	4.6	9.0	18.0	26.0	26.8	27.6	80.2	40.1
4	〃	3	〃	〃	4.6	9.2	18.2	26.2	27.2	28.0	99.2	46.3
5	〃	4	〃	〃	5.0	9.7	19.0	26.6	27.2	28.2	92.6	47.4
6	〃	6	〃	〃	4.2	8.3	16.8	25.6	27.0	27.8	110.8	45.8

Fig. 4. Comparison of Yeast Activating Effect depend on the Difference of Degeneration Degree (Fermentation Result)

方法：糖蜜（全糖 11.66 %）処理時間を 0～48hrs. に亘る 10 種。被処理酵母の密度 $20 \times 10^6/\text{cc}$ （死亡率 37 %），SWL 本発酵には再び $20 \times 10^6/\text{cc}$ に齊一に調整して初発せしめる。

成績：各死亡率の酵母に対する処理後の発酵力の比較は，例えば死亡率 25 % の場合の成績 Table 4 の示す如く処理 1～4hrs. の間の成績に著差が無いので，一応茲には 1 hrs. 処理の場合をとり Fig. 4 に例示した。

実験 3 弱化酵母の糖蜜処理時間の影響 弱化酵母の糖蜜処理時間差による強化への影響を試験した。

Fig. 5. Influences of Yeast Treatment Hours with Molasses (Fermentation Result)

Table 5. Influences of Yeast Treating Hours with Molasses (Yeast Condition).

No.	Division	Treat. hrs.	Yeast after Treatment with Molasses		Total yeast	After SWL-ferment. (24hrs.) by yeast treat with Molasses	
			Total yeast	Death-Y.Ratio		Total yeast	Death-Y.Ratio
1		0	20.0	37.5	—	47.5	30.8
2		3	21.5	37.2	20.0	49.2	28.5
3		6	34.0	36.9	21.2	48.9	19.5
4		9	49.6	25.6	23.4	58.5	15.5
5		12	71.7	19.1	27.2	63.4	7.9
6		15	100.4	14.7	—	58.8	9.0
7		18	151.7	9.9	27.8	58.8	5.0
8		21	183.2	12.6	—	60.9	5.5
9		24	200.8	13.6	46.5	55.6	7.2
10		48	277.6	39.5	—	55.3	27.

成績：各時間処理の前後及び処理酵母による SWL 本発酵の酵母の消長は Table 5 に、処理酵母による SWL 発酵成績の比較は一括して Fig. 5 に示す

実験4 処理培地糖濃度の影響 強化処理培地としての糖蜜の糖濃度差の影響を試験した。

方法：糖蜜の糖濃度は原糖蜜を稀釈により 3, 5, 10, 20% の4種と対照 SWL (糖 1.93) とし、それぞれの 2 hrs. 処理による増殖力、発酵力への影響を比較。酵母接種密度は対処理時 $50 \times 10^6/cc$, 対 SWL 発酵時 70×10^6 と調整した。

成績：各濃度糖蜜による 2hrs. 処理の前後及び発酵後の酵母消長を Table 6 に、又各処理酵母による SWL 発酵成績の比較を一括 Fig. 6 に示す

実験5 処理培地種類及び稀釈度の影響

処理培地として糖蜜の他に工業的培地として考えられる甘諸醗の如きの適否及びそれらの SWL による稀釈程度による影響を試験した。

方法：甘諸醗は数廻による糖化濾液を供試。SWL による稀釈度は 7:3, 5:5, 3:7 とした。処理時の酵母接種量は $26 \times 10^6/cc$ (死化率 42%), 8 hrs. 処理。処理後酵母による SWL 発酵試験時の接種密度は再び $26 \times 10^6/cc$ に調整。

成績：本試験による酵母消長及び発酵への影響差は一括 Table 7 に示す

Fig. 6. Influences of Sugar Concentration of Treatment Medium. (Fermentation Result)

Table 6. Influences of Sugar Concentration of Treatment Media (Yeast Condition)

No.	Treatment Media		Yeast before Treat.		Yeast after Treat (2 hrs.)		After SWL-fermentation by yeast treated	
	Medium	Sugar %	Total yeast	Death-yeast R.	Total yeast	Death-yeast R.	Total yeast	Death-yeast R.
1	—	1.926	49.4	25.2	—	—	76.8	29.6
2	SWL	—	—	25.2	48.1	25.0	86.2	26.4
3	Molasses	3.71	47.4	28.2	47.5	24.0	86.4	31.6
4	—	4.86	48.8	26.0	49.3	26.5	86.0	27.8
5	—	9.56	49.7	25.5	48.7	24.0	108.0	29.6
6	—	19.19	46.0	26.0	48.1	26.0	106.4	30.6

考

察

1) SWL 酒精発酵に於ける弱体化酵母は糖蜜に極めて短時間接触せしめるのみでその増殖力、発酵力を著しく恢復強化し得ることが解つた。その影響は酵母の弱体化した程大で (Fig. 4), 処理培地には糖蜜培養培地が広く考えられるが、工業的に好適する糖蜜の如きでは 3% 程度に稀釈しても効果が大きく、この際 SWL 稀釈は酵母の馴養上にも適当すると思われる (Fig. 6, Table 7)。

2) SWL では酵母増殖の認め難い 1~3 hrs. の如き短時間処理でも (Table 2, 3), 或は延長して 15 hrs. 程度の処理でも (Table 5), 冬の酵母の均一接種により初発せしめた発酵に於いて増殖の優れていることは、短時間処理

Table 7. Influences of Dilution of Treatment Media (Yeast Condition)

No.	Distribution of Media			Yeast after Treat. (8hrs.)		After SWL-fermentation by Yeast treated		
	SWL	Molasses	Potato Mash	Total yeast	Death-yeast Ratio	Total yeast	Death-yeast Ratio	Sugar utilised
1	10	0	—	26.1	42.2	43.5	29.1	1.181
2	7	3	—	30.6	40.1	44.8	19.3	1.557
3	5	5	—	34.0	34.3	53.4	11.1	1.698
4	3	7	—	35.6	33.3	46.1	13.7	1.698
5	0	10	—	60.0	22.9	45.4	12.7	1.698
6	7	—	3	32.3	48.0	44.1	27.1	1.439
7	5	—	5	25.6	45.6	46.8	22.1	1.557
8	3	—	7	29.2	42.1	55.8	14.5	1.698
9	0	—	10	64.6	22.5	50.1	14.0	1.698

では log-period の短縮, やや長時処理では logarithmic period の加速と云う効果に因るものも考えられる。又発酵後の増殖絶対数の差に比して発酵成績の遙かに優れていることより (Table 5, Fig. 5), なお処理による酵母の発酵力強化と云う影響をも同時に考えられるが, 尙今後の研究に俟ちたい。

3). 処理酵母はその処理後又それを使用した発酵後に於いても SWL の対照に比し死亡率が低度となることより処理による酵母の強化を示すものと解したい (Table 2, 3, 5, 7)。

4) 同一目的の実験を木材酸糖化液についても実施したが, 殆んど同結果が得られたので斯かる低糖, 低栄養にして阻害物質の多い培地の酒精発酵に際して酵母 re-use 上その他酵母前培養過程に, 又 SWL 酵母の増殖促進上にも広くその適応が期待出来るものと考え。

要

約

1. 亜硫酸パルプ廃液 (或は木材酸糖化液) の如き低糖, 低栄養にして阻害物質を多く含有する培地に対する酵母の増殖力及び醗耐性が他に比し極めて劣る関係を究明した。

2. かかる培地の酒精発酵殊に re-use 発酵に際して, 弱化せる酵母を糖蜜の如き栄養培地に予め短時間接触せしめることにより, その増殖及び発酵力を著しく強化し得られることが分つた。この際の影響する諸条件を検討し, その理由を考察して, その適応を re-use 連続発酵その他酵母前培養上に, 又 SWL 酵母の増殖促進上にも求められると云う知見を得た。

当研究に当り試料の提供を賜つた国策パルプ工業, 王子発酵工業の二社工場に厚く感謝します。又実験に協力された長谷川辰雄, 加藤勝弘両君に感謝します。

1. USINE-DE-MELLE G. P. 639,775 (1936), 640,775 (1936), 特 163,894 (1937)
2. O.KEUSSLER G. P. 744,682 (1943), C. A. 39,2842 (1945)
3. H. SCHOLLER 特124,361 (1938), 129,253 (1938).
4. 中村 静 特. 127,833 (1938).
5. 大岩源吾: 亜硫酸パルプ廃液を原料とする酒精発酵 (1949)
6. ADAMS S. L. HUNGATE: *Ind. Eng. Chem.*, 9, 1815. (1950)
7. 七字三郎, 大倉敬明, 外村健三: 発酵研究所報告, 6, 41 (1951)
8. 七字三郎, 長谷川辰雄: 発酵研究所報告, 6, 57 (1951), 7, 9 (1952)
9. 七字三郎, 御園光信: 発酵研究所報告, 7, 59 (1952).
10. 七字三郎, 横山樹雄 農化, 26, 362 (1952)
11. FINK: *Wochenschr. Brau.*, 185 (1933)
12. 逸見文雄, 友枝幹夫: 農化, 19, 381 (1944)
13. G. MENZINSKY: *Swensk papperstidn.*, 45, 421-8(1942)
14. M, C. JOHNSON, E. E. HARRIS *J. Am. chem. Soc.*, 70,, 2961 (1948)
15. B. MYRBACK: *Die Meihoden d. Fermentforschung*, 2150 (1941)

Summary

The propagation and the durability of yeast for Sulfite Waste Liquor (SWL) or Wood Sugar mash,

weak in sugar concentration, poor in nutriment and much in inhibitor, were low in comparison to other media on one batch or continuous fermentation.

When the degenerated yeast in SWL or Wood Sugar on alc.-fermentation, above all by Yeast Re-use method, was brought into contact with nutriment medium like molasses, the propagation and fermentation were increased remarkably in power.

The effect was proportional to the degeneration degree of yeast, and was conspicuous even in a short time contact with molasses (1-3 Hr.), and in concentration of treatment medium diluted to 3% of sugar. There are comprehensively many nutriment medium besides molasses.

The effect to the propagation seemed to be due to shortening of lag-period and to the promotion of logarithmic period on yeast growth. Therefore, it is considered a proper method to treat with molasses for the purpose of activating the generated yeast rapidly in preculture or in Yeast Re-use method, of SWL-fermentation.

酸化細菌に関する研究(第6報)

B. megatherium 及び *B. natto* による α -Ketoglutaric Acid の生成に就て

朝井勇宣, 相田 浩, 杉崎善治郎 (東京大学農学部農芸化学教室)

昭和27年8月11日受理

Studies on the Oxidative Bacteria. Part 6. On the Production of
 α -Ketoglutaric acid by *B. megatherium* and *B. natto*

By Toshinobu ASAI, Kō AIDA and Zenzirō SUGISAKI

(Dept. Agr. Chem., Fac. Agr., Univ. of Tokyo)

緒

言

α -Ketoglutaric acid が炭水化物代謝上に占むる地位の重要性にも拘はらず, それが細菌の主要代謝生産物の一つとして報告されたのは比較的近年であり LOCKWOOD and STODOLA⁽¹⁾が1946年 *Pseudomonas fluorescens* NRRL B-6 について報告したのを嚆矢とする. その後 KOEPEL⁽²⁾は同菌を使用し gluconic acid より同酸の生成機構に就て研究を行い第一段階に於て gluconic acid から 2-ketoglutaric acid への酸化が行はれ, 次いで後者から Pyruvic acid が出来, 残りの C_3 或は C_2 の部分と Pyruvic acid から α -ketogluconic acid が生成されるものと考えた. 又 CAMPBELL and STOKES⁽³⁾は *Pseudomonas aeruginosa* による glucose の代謝に就て研究を進めつつあるが同菌にトリカルボン酸サイクルの存在することを認めている.

我国に於ても増尾等⁽⁴⁾は *Pseudomonas* 属菌により α -ketoglutaric, pyruvic 及び ovaloacetic acid が生成される事実を認め, 又朝井等⁽⁵⁾も *Pseudomonas* 属菌及び新たに *Serratia* 菌が振盪培養に於て glucose より α -ketoglutaric acid を生成する事実を見出した. その後片桐等⁽⁶⁾は *Coli-aerogenes* 属細菌の或ものも著量に α -ketoglutaric acid を生成する事実を見出した.

我々は現在 *Pseudomonas*, *Serratia* 菌等を含む広い意味の酸化細菌に就て, その酸化生産物及びその生成機構について研究を進めつつあるが *Pseudomonas*, *Serratia* 菌等が shake culture に於て強い酸化能を示し, 特に *Serratia* 菌の如く surface culture に於ては glucose より acetoin の生成の如き酒精醗酵に準ずる代謝形式をとる菌が shake culture に於ては大部分が 2-ketogluconic acid として集積する酸化醗酵を行い1種のパストール反応と見做し得る挙動を示すことに注目し種々の一般好気性菌に就て shake culture によりその酸化能を追求していたが今回 *B. megatherium* DE BARY, *B. natto* 1, 2 及び *Bact. succinicum* 等の菌が shake culture に於て glucose より著量の α -ketoglutaric acid を集積する事実を認めたので, これらの菌は一般に酸化細菌とは称し得ないのであるが先に報告せる *Pseudomonas*, *Serratia* 菌による同酸の生成との関係に着目し, ここに第6報として報告する次第である.