- (1) A. L. DEAN : *Bot. Gaz.*, 40, 121 (1905).
 (2) S. L. IVANOW *Bot. Zbl.* 1. Abteil., 29, 144 (1913).
 (3) K. LINDERSTRÖM-LANG, M. SATO : *Z. Physiol. Chem.*, 184, 83 (1929).
 (4) M. SATO : *Compt. rend. Lab. Carlsberg*, 19, No. 1 (1931).
 (5) 有山, 志村 : 蛋白質化学, 42 (1950).
 (6) 佐藤, 大内, 赤塚, 平松 : 本誌, 28, 140 (1954).
 (7) E. L. SMITH, M. BERGMANN : *J. Biol. Chem.*, 153, 627 (1944).
 (8) R. WILLSTÄTTER, E. WALDSCHMIDT-LEITZ : *Ber.*, 54, 2988 (1921).
 (9) K. LINDERSTRÖM-LANG, M. SATO : *Compt. rend. Lab. Carlsberg*, 17, No. 17 (1929).
 (10) E. FISCHER . Untersuchungen über Aminosäuren, Polypeptide und Proteine. *Berline*, I (1906), II (1919).
 (11) J. C. SHEEHAN. V. S. FRANK : *J. Am. Chem. Soc.*, 71, 1856 (1949).
 (12) 山下, 屋代 : 本誌, 28, 674 (1954).
 (13) M. SATO : *Mem. Fac. Sci. and Agr. Taihoku Imp. Univ.*, 9, No. 2 (1934).
 (14) 佐藤, 大内, 橋本 : 茨城大学農学部研究報告第 1 号, 29 (1953).
 (15) K. LINDERSTRÖM-LANG : *Z. Physiol. Chem.*, 188, 48 (1930).
 (16) J. D. MOUNFIELD *Biochem. J.*, 30, 549 (1936).

ブ タ ノ ー ル 醗 酵 (第 4 報)*

育 成 (その 2)

本 江 元 吉 (九州大学農学部農芸化学教室)

昭 和 31 年 6 月 18 日 受 理

ブタノール醗酵の種母育成技法での盲点の 1 つは移植の時期と回数との相関に基づく検討を欠いていることであつた。一方ブタノール菌の培養ではその発生ガス量と酸度との間に一定関係があることが前報⁽¹⁾で確められた。この関係に基いて醗酵量の秤量によつて酸度期を察知し、種母培養の時期を区別しつつ移植を続け、移植の時期と回数とが相関連して醗酵速度に及ぼす影響を諸種の場合について検し、その最適点を主醗酵に求めようとした。

実 験

使用菌株は前報⁽¹⁾と同じく *Clostridium acetobutylicum* に属する東大 314 及び 179 の両株。全実験を通じて醗酵容量は 300 ml, 接種量は 10 ml. 各醗酵はそれぞれガス時間曲線を書いて醗酵所要期間を比較。

I. 種母を玉蜀黍培地で移植する場合

種母培養には玉蜀黍 6% 醗。糖質主醗酵には蔗糖 6%, 大豆粕 0.6%, CaCO₃ 0.3% 及び Speakman 塩液の醗。

a. 最高酸度期前の移植 : 第 1 表に示す。314 株でも同様。即ち玉蜀黍醗でも蔗糖醗でも移植につれて醗酵期

第 1 表 玉蜀黍培地での定時期の移植が糖質の醗酵速度に及ぼす影響

(a) 最高酸度期前の移植

菌株 : 179, 温度 : 37°

玉 蜀 黍 種母培養	移 植 回 数	1	2	3	4
	移植迄の時間	26	23	24	23
	移植迄のガス量 (g/300ml)	1.20	1.80	1.50	1.60
	醗 酵 期 間 (日)		3.7	2.7	2.5
糖 質 主 醗 酵	醗 酵 期 間 (日)		6	4.7	4.8
	ガ ス 量 (g/300ml)		10.6	10.8	10.7
	ソルベント収率 (%)		32.0	—	—
					33.0

間は短縮されるが、6% 糖質の醗酵には 4 日近くを要する。

b. 減酸中期の移植 : 第 2

表に示す。314 株でも同様。即ち

移植につれて醗酵速度は増し、

期間の短縮は最高酸度期前の移

植より大ではあるが 6% 糖質の

醗酵におお 3 日半以上を要する。

c. 最低酸度期前後の移植 :

第 3 表に示す。179 株でも同様。即ち移植につれて醗酵速度は増し、期間の短縮は減酸中期移植より大で、6% 糖質の醗酵は 2 日余りで終了する。

d. 初め最高酸度期前後、後に最低酸度期の移植 : 第 4 表に示す。179 株でも同様。効果は著しくない。

* Butanol Fermentation. Part IV. A Technique of Inoculum-development Method (2).
 By Motoyoshi HONGO (Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture,
 Kyushu University)

第 2 表 玉蜀黍培地での定時期の移植が糖質の醗酵速度に及ぼす影響
(b) 減酸中期の移植

菌株: 179, 温度: 37°

玉蜀黍 種母培養	移 植 回 数	1	2	3	4
	移植迄の時間	44	38	34	30
	移植迄のガス量 (g/300ml)	5.50	3.55	4.93	3.20
	醗 酵 期 間 (日)		3	2.4	2.3
糖 質 主 醗 酵	醗 酵 期 間 (日)		5	4.4	4
	ガ ス 量 (g/300ml)		10.6	10.5	10.5
	ソ ル ベ ン ト 収 率 (%)		32.1	—	—
					32.6

第 3 表 玉蜀黍培地での定時期の移植が糖質の醗酵速度に及ぼす影響
(c) 最低酸度期前後の移植

菌株: 314, 温度: 37°

玉蜀黍 種母培養	移 植 回 数	1	2	3	4	5
	移植迄の時間	38	32	37	30	27
	移植迄のガス量 (g/300ml)	6.76	4.95	6.48	5.35	4.92
	醗 酵 期 間 (日)	2.7	2.3	1.8	1.7	1.7
糖 質 主 醗 酵	醗 酵 期 間 (日)					2.3
	ガ ス 量 (g/300ml)					9.7
	ソ ル ベ ン ト 収 率 (%)					32.5
						32.9

第 4 表 玉蜀黍培地での定時期の移植が糖質の醗酵速度に及ぼす影響
(d) 初め最高酸度期前後, 後に最低酸度期の移植

菌株: 314, 温度: 37°

玉蜀黍 種母培養	移 植 回 数	1	2	3	4	5
	移植迄の時間	26	20	18	28	26
	移植迄のガス量 (g/300ml)	1.95	1.99	2.40	5.41	5.22
	醗 酵 期 間 (日)	2.5	2.3	2.3	1.8	1.6
糖 質 主 醗 酵	醗 酵 期 間 (日)					3.6
	ガ ス 量 (g/300ml)					9.8
	ソ ル ベ ン ト 収 率 (%)					32.6
						32.7

第 5 表 糖質培地での定時期の移植が糖質の醗酵速度に及ぼす影響
(a) 最高酸度期前の移植

菌株: 179, 温度: 37°, ヘッド部半量接種法

移 植 回 数	1	2	3	4	5	6
移植迄の時間	26	20	21	23	18	→
移植迄のガス量 (g/300 ml)	1.40	1.65	1.40	1.62	1.65	→
醗 酵 期 間 (日)	5	5	5	5.2	4.5	4
ガ ス 総 量 (g/300 ml)	10.1	10.3	10.9	10.2	10.3	10.7
ソ ル ベ ン ト 収 率 (%)	33.2	33.2	33.5	34.0	33.5	33.2

第 6 表 糖質培地での定時期の移植が糖質の醗酵速度に及ぼす影響
(b) 減酸中期の移植

菌株: 179, 温度: 37°, ヘッド部半量接種法

移 植 回 数	1	2	3	4	5	6
移植迄の時間	40	36	30	24	22	24
移植迄のガス量 (g/300 ml)	3.60	2.98	2.78	2.93	3.00	5.30
醗 酵 期 間 (日)	5.7	5.7	4.2	3.3	2.5	2.5
ガ ス 総 量 (g/300 ml)	10.7	10.6	10.9	10.0	9.9	10.5
ソ ル ベ ン ト 収 率 (%)	33.0	—	33.1	—	33.3	34.2

以上種母を玉蜀黍培地で培養する場合, 最高酸度期附近で移植を続けると 6% 糖質の醗酵には移植 5 回でも 4 日近くを要したが, 移植時期を減酸中期更に最低酸度期と進めるに従って醗酵速度の増進は著しく, 後者では 6% 糖質醗酵は 2 日余りで終了した。この点, 主醗酵直前の種母培養だけについてではあるが従来の減酸初期移植に対して最低酸度期を移植最良時期とした指摘⁽²⁾は妥当と考えられた。もつとも, 最高酸度附近で移植を続け主醗酵直前の種母代だけを最低酸度期で移植するのでは効果が低かつた(この点は次の種母を糖質培地で培養する場合や後報する糖蜜醗酵の場合の結果と相違)。移植の時期を考慮にいれぬ一般の場合には, 移植につれて醗酵速度は増進し, 殊に実験室での試験管培養では種母量は多くなり勝ちであり保温も良く, 24 時間毎の定時移植では漸次時期を進めて移植したことになる醗酵期間は短縮されると考えられ, 主醗酵直前の種母代の最低酸度期接種の効果や, 前報玉蜀黍培地従来法の検討で時には 2 日余りで醗酵を終るものもあつたのは, この為の効果と認められた。

II. 種母を糖質培地で移植する場合

種母培養も主醗酵も蔗糖 6%, 大豆粕 0.6%, CaCO₃ 0.3% 及び Speakman 塩液の醗酵を使用。なお, 当時実験室では移植にヘッド部半量液部半量の割に種菌が採られていたが, これではヘッドに密集する種菌細胞をそれだけ多く移植した事になり栄養源量も多少多くなるので, 醗酵を振盪してできるだけ均等に種菌

第 7 表 糖質培地での定時期の移植が糖質の醗酵速度に及ぼす影響

(c) 減酸末期の移植

菌株: 179, 温度: 37°, ヘッド部半量採種法

移 植 回 数	1	2	3	4	5	6
移 植 迄 の 時 間	42	52	44	27	24	24
移植迄のガス量 (g/300 ml)	4.95	4.10	4.75	4.40	4.26	6.50
醗 酵 期 間 (日)	5	5	4	2.8	2.6	2.2
ガ ス 総 量 (g/300 ml)	10.2	10.3	10.5	9.6	9.4	9.9
ソルベント収率 (%)	31.6	—	—	35.0	—	33.3

第 8 表 糖質培地での定時期の移植が糖質の醗酵速度に及ぼす影響

(d) 最低酸度期の移植

菌株: 179, 温度: 37°, ヘッド部半量採種法

移 植 回 数	1	2	3	4	5	6
移 植 迄 の 時 間	96	42	31	44	30	24
移植迄のガス量 (g/300 ml)	5.53	6.18	5.92	8.35	6.00	4.54
醗 酵 期 間 (日)		4	2.4	2.7	2.1	2
ガ ス 総 量 (g/300 ml)		10.5	9.9	9.8	10.0	10.4
ソルベント収率 (%)		32.0	—	—	34.1	34.5

菌株: 314, 温度: 37°, 均等採種法

移 植 回 数	1	2	3	4	5	6
移 植 迄 の 時 間*	47	40	31	27	34	—
移植迄のガス量 (g/300 ml)	6.08	6.52	5.85	6.05	7.47	—
醗 酵 期 間 (日)	5	3.3	4	2	2.5	3.3
ガ ス 総 量 (g/300 ml)	10.1	10.0	9.3	10.1	9.9	9.5
ソルベント収率 (%)	32.5	—	—	33.5	—	34.8

初から繁殖とともにガス発生が始まり 24 時間で 1 回目の 4 倍 (全量の 65%) のガスを放出する。醗酵期間は 1/2 以下に短縮され, 179 株で 2 日余り, 314 株で 2 日半となる。

d. 最低酸度期の移植 第 8 表に示す。即ち, 移植に従い醗酵速度は急激に増し湧き付きは早くなり, ヘッド部半量採種法では移植 6 回で最短 2 日となる。均等採種法では 4 回目で最短となり, 314 株で 2 日, 179 株で 2.3 日である。この最大醗酵速度の維持は同期移植では困難で, 殊に時期を失して最低酸度後の増酸期の移植になると急に減ずる。

以上, 種母培養を糖質で行う場合も, 玉蜀黍でと同様に移植の時期と回数との相関的影響は鋭敏に醗酵速度に現れ最高酸度期前の移植が 6 回でも 6% 糖質の醗酵になお 4 日を要するのに対し, 減酸中期, 末期, 最低酸度期と移植の時期を先にとるに従つて移植回数少くして醗酵速度は増し, 最低酸度期移植ではヘッド部半量採種で 5~6 回目に均等採種で 4 回目に醗酵期間は 2 日となつた。もつとも, 後者の醗酵速度の維持は困難であつた。

III. 特殊育成法

種母培養も主醗酵も前記の糖質培地。但し前報のように当初の特殊培養には CaCO_3 を接種時に加えず醗酵中絶後に僅少量添加。

A. 各回同期移植

a. 最高酸度期前の移植 (特殊培養からの移植は減酸中期): 第 9 表に示す。179 株でも同様。移植に従つて

第 9 表 特殊育成法 (a) (減酸中期→) 最高酸度期前の移植

菌株: 314, 温度: 37°

移 植 回 数	特殊培養	1	2	3	4	5
移 植 迄 の 時 間	1 日 1.05	20	22	17	14	—
移植迄のガス量 (g/300 ml)	2 日 1.90	1.58	1.91	1.70	1.80	—
醗 酵 期 間 (日)	3 日 1.90	3.5	3.4	3	3.1	3.9
ガ ス 総 量 (g/300 ml)	4 日 2.07	10.0	10.2	9.9	9.8	10.5
ソルベント収率 (%)	5 日 2.37	32.7	—	33.0	—	33.6
	6 日 3.97	—	—	—	—	—

を採る法をも併せ行つた。

a. 最高酸度期前の移植:

第 5 表に示す。314 株でもほぼ同様。即ち, 移植に従つて醗酵速度は多少増すが 6% 糖質醗酵に 179 株で 100 時間足らず, 314 株で 90 時間足らずを要する。

b. 減酸中期の移植: 第 6

表に示す。314 株でもほぼ同様。即ち, 移植に従つて醗酵速度は増し, 殊に 5~6 回で湧きつき早く (24 時間ガス出量は 1 回目の 2~数倍) 醗酵期間もかなり短縮できるが, 179 株で 60 時間余り, 314 株で 72 時間余りを要する。

c. 減酸末期の移植: 第 7

表に示す。314 株でもほぼ同様。即ち, 移植に従い殊に移植 4 回以後で著しく醗酵速度は増し湧き付きは早く 6 回目では接種当

期に増すが 3~4 日を要する。前の糖質培地移植法に比べると移植回数少く醗酵速度が増すが, これは特殊培養を移植回数の考慮に入れば各回数 n は $n+1$ 回のものに相当するのと特殊培養からの移植が減酸中期で行われた為と考えられる。

第 10 表 特殊育成法 (b) 減酸初, 中期の移植

菌株: 314, 温度: 37°

移植回数	特殊培養	1	2	3	4	5
移植迄の時間	1日 1.09	31	21	21	18	24
移植迄のガス量 (g/300 ml)	2日 1.95	→ 2.80	→ 2.62	→ 3.33	→ 3.05	→ 3.46
醗酵期間 (日)	3日 2.00	3.2	2.3	2.6	2.6	2.2
ガス総量 (g/300 ml)	4日 2.27	9.9	10.2	9.9	9.8	10.5
ソルベント収率 (%)	5日 2.50	32.4	—	33.3	—	34.0
	6日 3.57					

第 11 表 特殊育成法 (c) 減酸末期～最低酸度期の移植

菌株: 314, 温度: 37°

移植回数	特殊培養	1	2	3	4	5
移植迄の時間	1日 1.00	44	29	28	25	24
移植迄のガス量 (g/300 ml)	2日 1.95	→ 6.97	→ 5.86	→ 4.87	→ 5.59	→ 5.25
醗酵期間 (日)	3日 1.95	3.1	2.2	2.2	2	2
ガス総量 (g/300 ml)	4日 2.22	10.0	9.8	9.6	9.4	9.5
ソルベント収率 (%)	5日 3.05	33.0	—	33.1	—	34.2
	6日 6.05					

第 12 表 特殊育成法 (d) 最低酸度後の増酸期の移植

菌株: 314, 温度: 37°, ヘッド部半量採種法

移植回数	特殊培養	1	2	3	4
移植迄の時間	1日 0.50	6.0	36	31	24
移植迄のガス量 (g/300 ml)	2日 1.95	→ 8.92	→ 7.25	→ 7.51	→ 5.00
醗酵期間 (日)	3日 1.98	3.2	2.3	1.5	1.9
ガス総量 (g/300 ml)	4日 2.18	10.3	9.2	10.0	10.3
ソルベント収率 (%)	5日 2.48	33.8	33.2	35.0	36.2
	6日 3.38				
	7日 7.52				

菌株: 179, 温度 37°, 均等採種法

移植回数	特殊培養	1	2	3	4	5	6
移植迄の時間	1日 0.95	39	34	37	33	37	46
移植迄のガス量 (g/300 ml)	2日 2.38	→ 6.67	→ 5.57	→ 7.35	→ 5.90	→ 6.97	→ 7.10
醗酵期間 (日)	3日 2.80	3.5	3.3	2.8	3	2.5	3
ガス総量 (g/300 ml)	4日 3.20	10.0	9.9	9.9	9.9	9.8	10.3
ソルベント収率 (%)	5日 6.10	33.0	—	33.5	—	34.0	44.8

314 株では移植 3 回で 36 時間, 179 株では 4 回で 43 時間で 6% 糖質の醗酵を終る。最大醗酵速度の維持は困難であるが, 179 株で 2 日前後, 314 株で 2 日以内の醗酵期間を保つ。均等採種法では期間短縮は通常見られる程度で, 上の極端な短縮はヘッド部半量採種によるものである。

以上, 醗酵中絶を経て特有なヘッド部半量採種を行う時も移植の時期を後にするもの程良好で, 殊に最低酸度後の増酸期に採つたものは 3~4 代で全実験中最短醗酵期間 36 時間が現れた。単に時間を標準に定時移植した従来育成法中に醗酵期間 2 日が現れたのは, 移植が進むに従つて時期がずれ後期のものを採種するようになったのに原因すると考えられた。然し均等採種を行う時には結果は自づから異り, 少なくとも最低酸度後の増酸期の移植は不適であつた。全般的にみてこの特殊法では, 通常の移植に比べて〔醗酵速度の増進/移植回数〕が大であつた。それで最適点を検する以下の実験はすべてこの法によることにした。

B. 異期移植

上の各回同期移植では, 減酸末期以後の移植は移植迄の時間が長く, また早期移植の培養がかなりの回数でも強く糖の食い切りがよいのに比べて醗酵速度は大でも弱くて糖の食い切りが幾分悪かつた。これらを考慮すると, 初めは早期に移植し, 回数を経て醗酵速度の増した時に後期移植を行う法が妥当と考えられた。

1. ヘッド部半量採種法

a. 最高酸度期前→最低酸度期の移植 (特殊培養からの移植は減酸中期): 第 13 表に示す。即ち, 1 日余り短縮される (第 4 表玉蜀黍培地移植と相違) がなお 2 日以上である。

b. 減酸初, 中期→減酸末期の移植: 第 14 表に示す。即ち, 初めに最高酸度期前の移植を続けたものより

b. 減酸中期の移植: 第 10

表に示す。179 株でもほぼ同様。即ち, II の b に比べ, 特殊培養を考慮し回数を 1 回ずらして考えても, なお少くも回数 1 回だけより少く醗酵速度は増し (湧き付きも早く移植迄の時間も短い), 醗酵速度増加率は II の c 減酸末期移植に相当する。醗酵期間は移植 2 回で 3 日以内に, 中期移植の 179 株では 3 回以下 2 日余りに, 初中期移植の 314 株では 5 回で 2 日余りに短縮される。

c. 減酸末期～最低酸度期の移植

第 11 表に示す。179 株でもほぼ同様。即ち, 減酸中期移植より更に湧き付き早く醗酵速度も増し, 314 株では移植 4~5 回で 2 日に, 179 株では 3 回で 2 日半, 5 回で 2 日余りに短縮される。

d. 最低酸度後の増酸

期の移植 第 12 表に示す。即ち, ヘッド部半量採種では全実験中最短醗酵期間のものが現れ,

第 13 表 特殊育成法

(a) 最高酸度期前→最低酸度期の移植

菌株: 314, 温度: 37°, 第 9 表移植 4 回から時期を遅らせて移植

移植回数	4	5 a	5 b
第 1 回 { 時間	14 →		
移植迄の { ガス量*	1.80		
第 2 回 { 時間	31		
移植迄の { ガス量*	5.75		
醗酵期間(日)		3.9	2.7
ガス総量*		10.5	10.0
24時間ガス量*		3.60	4.80
ソルベント収率(%)		33.6	33.4

* g/300 ml

第 14 表 特殊育成法

(b) 減酸初, 中期→減酸末期の移植

菌株: 314, 温度: 37°, 第 10 表移植 4 回から時期を遅らせて移植

移植回数	4	5 a	5 b
第 1 回 { 時間	18 →		
移植迄の { ガス量*	3.05		
第 2 回 { 時間	27		
移植迄の { ガス量*	5.47		
醗酵期間(日)		2.2	1.8
ガス総量*		10.5	10.2
24時間ガス量*		3.46	6.26
ソルベント収率(%)		34.0	34.2

* g/300 ml

第 15 表 特殊育成法 (c) (最低酸度後の増酸期→) 減酸初期→最低酸度期の移植

菌株: 314, 温度: 37°, ベッド部半量採種法

移植回数	1	2	3	4	5	6	7
第 1 回 { 時間	29	17	12	12	14	13	
移植迄の { ガス量 (g/300 ml)	2.48	3.55	2.08	2.05	2.12	2.24	
醗酵期間(日)	3	2.6	2	2.3	2.7	2.3	2
ガス総量 (g/300 ml)	8.4	9.1	9.1	9.2	9.3	9.0	9.4
24時間ガス量 (g/300 ml)	5.00	5.20	5.67	4.30	5.20	3.20	
第 2 回 { 時間	5日	8.03		24	30	30	
移植迄の { ガス量 (g/300 ml)				5.67	5.95	6.74	
移植回数				↓ ₄₅	↓ ₅₆	↓ ₆₇	
移植迄の時間 醗酵期間(日)				2.3	24	1.6	1.8
ガス総量*				9.5	9.2	9.4	9.4
同 ガス量* 24時間ガス量*				4.50	6.10	6.10	5.30
				↓ ₅₇			
					1.6		
					9.0		
					6.30		

* g/300 ml

第 16 表 特殊育成法 (a) (減酸中期→) 最高酸度期前後→最低酸度期

菌株: 314, 温度 37°, 均等採種法

移植回数	1	2	3	4	5	6	7
第 1 回 { 時間	29	17	18	18	18	13	
移植迄の { ガス量 (g/300 ml)	2.11	2.30	2.93	1.98	2.08	2.01	
醗酵期間(日)	3	2.7	2.7	2.3	2.3	2.3	2.7
ガス総量 (g/300 ml)	9.8	9.4	9.6	9.5	9.2	9.5	9.8
24時間ガス量 (g/300 ml)	1.40	3.70	4.40	3.20	3.60	5.00	4.60
第 2 回 { 時間	5日	3.10		34	32	25	
移植迄の { ガス量 (g/300 ml)				5.88	6.05	5.51	
移植回数				↓ ₄₅	↓ ₅₆	↓ ₆₇	
移植迄の時間 醗酵期間(日)				28	2.2	2.3	
ガス総量*				9.9	9.8	9.9	
同 ガス量* 24時間ガス量*				5.32	4.20	6.12	6.00
				↓ ₄₆	↓ ₅₇		
				23	2.1	2.2	
				9.4	9.6		
				5.04	4.50	5.20	
				↓ ₄₇			
				2.0			
				10.3			
				4.40			

* g/300 ml

第 17 表 特殊育成法 (b) (最低酸度期→)減酸中期→最低酸度期の移植

菌株: 179, 温度: 37°, 均等採種法

移植回数	特殊培養	1	2	3	4	5	6
第 1 回 { 時間		22	25	20	23	22	
移植迄の { ガス量 (g/300 ml)	1 日 0.89	3.50	3.71	3.30	4.20	4.15	
醗酵期間(日)	2 日 2.17	4	2.7	2.5	2.5	2.4	2.5
ガス総量 (g/300 ml)	3 日 2.47 + CaCO ₃ 0.4g	9.5	9.6	9.5	9.4	9.6	9.7
24 時間ガス量 (g/300 ml)	4 日 2.80	3.60	3.70	4.10	4.40	4.50	4.00
第 2 回 { 時間	5 日 6.07				26	32	
移植迄の { ガス量 (g/300 ml)					4.67	6.01	
移植回数					↓ ₄₅	↓ ₅₆	
移植迄の時間	醗酵期間(日)				35	2.4	30
ガス総量*					9.7		1.8
同ガス量* 24時間ガス量*					6.20	3.90	5.34
					↓ ₄₆	↓ ₅₇	
					30	2.1	1.8
					9.7		10.4
					5.60	4.05	4.00
					↓ ₄₇		
					1.8		
					10.6		
					4.10		

1⁰ 時間以上短縮され, 43 時間で醗酵を終る。

c. 減酸初期→最低酸度期の移植 (特殊培養からの移植は最低酸度後の増酸期): 第 15 表に示す。即ち, 移植 5~6 回から最低酸度期に移植して 38 時間で終了が現れる。これは特殊培養の後で最低酸度後の増酸期に同期移植を続けた III Ad の 3 回に相当する。本法では特殊培養からの移植が増酸期で移植 2 回以下湧き付きが早く, また減酸初期移植が菌の弱화를防ぎ 5~6 回で最低酸度期に移植するため III Ad の 3 回とほぼ同効果となり, 加えるに高醗酵速度の維持性をも伴ったと考えられる。結局ヘッド部半量採種法では本法と III Ad 法とがよいが本法の方が適確であつた。

2. 均等採種法

a. 最高酸度期前後→最低酸度期前後 (特殊培養からの移植は減酸中期): 第 16 表に示す。即ち, 移植 5 回から最低酸度期移植 1 回或は移植 4 回から減酸末期移植 3 回を行う時最大醗酵速度が現れ最短 42 時間で醗酵を終了する。なお, 特殊培養から最低酸度後の増酸期に採つて減酸初期→最低酸度期に移植する III の B 1 c 法は均等採種するとこの法に劣る (表略)。

b. 減酸中期→最低酸度期前後の移植 (特殊培養からの移植は最低酸度期): 第 17 表に示す。即ち, 移植 4 回から減酸末期移植 3 回或は 5 回から同移植 1 回で 43 時間に短縮される。

以上, 均等採種では特殊培養から減酸中末期に採つて減酸初中期移植を 5 回続け減酸末期~最低酸度期に主醗酵に接種するか, 或は移植 4 回から減酸末期~最低酸度期の移植を 2 回行つた培養を同時期に主醗酵の種母とするのが最良で, いずれも 2 日以内に醗酵を終つた。

備考

前報⁽¹⁾したように, 菌の強さ (糖消費率) と醗酵速度 (糖消費速度) とは互に逆の傾向にあり, この 2 つを制御均衡させて最適点を主醗酵に求めるのが育成技法の要点であつた。いつてみれば HS を重ねて十分強化した培養を幾分不適な環境で移植していたことで醗酵速度を増進させた訳である。玉蜀黍培地は好適であるので実験範囲では醗酵速度がそれ程増進しなかつたと云える。後報する糖蜜は WEIZMANN 型菌株にとつて蔗糖より更に不適で, 結果は自づから異つてくる。逆に上述の諸結果は総て強い培養に出発した移植についてであつて, 弱性の菌株については HS を重ねても必ずしもこの通りに現れず, 移植回数少くして醗酵速度が或程度増進した後, 移植を続けると急に衰弱する。従つてそのような弱性菌株では最高酸度期前後~減酸初期移植がむしろ好結果をもたらす

総 括

ブタノール醗酵の種母育成技法について、移植の時期と回数とが関連して糖質主醗酵に及ぼす影響を検討した結果 WEIZMANN 型の 314 と 179 両株で、種母培養を玉蜀黍培地で行つても蔗糖培地で行つても、移植の時期と回数との相関的な影響は鋭敏に主醗酵の速度に現れることを明かにした。即ち最高酸度期附近で移植を続けると 5 回でも 6% 蔗糖醗酵に 4 日前後を要するが、移植時期を遅らせるに従つて移植回数少くして醗酵速度は増進し、最低酸度期移植を続けると 2 日前後に短縮される。これに基いて従来の育成諸法を精細に検討して解明し、育成技法に確かな一指針を呈示した。

終りに御指導を戴いた山崎教授並に菌株を分譲頂き御意見御鞭撻を戴いた東大坂口教授に深謝する。なお研究費の一部は文部省科学研究費による。

(1) 本江元吉： 本誌，30，729 (1956)。

(2) 井上七雄 本誌，20，74 (1944)。

複 合 脂 質 に 関 す る 研 究 (第 6 報)*

糖脂質 Phrenosine の分離と性状

藤 野 安 彦 (帯広畜産大学生化学研究室)

昭和 31 年 6 月 30 日 受 理

緒 言

Phrenosine** は 1874 年に THUDICUM⁽¹⁾ が初めて分離した糖脂質 (Cerebrosides) の一種で、爾来幾多の研究が集積された結果、最近著者⁽³⁾はその最終的な化学構造を第 1 図のように記載した。

1-β-Galactopyranosyl-2-[α-hydroxytetracosanoyl]-D-erythro-2-amino-1,3-dihydroxy-4-trans-octadecene

第 1 図 Phrenosine の構造式

Phrenosine は糖脂質群の中では比較的良好に研究されて来たものであるが、にも拘らずその分離精製は依然困難で、標品中に少くも cerasine, nervone 及び oxynervone 等の糖脂質、或は更に磷脂質をも混在することを避け難い。著者は phrenosine の生化学的研究を実施するに当つて、先ず良好な収量において phrenosine を純粋に

単離する必要を痛感した。通常 phrenosine は脳髓を原料として THIERFELDER⁽⁴⁾ の方法又は ROSENHEIM⁽⁵⁾ の方法で調製されるが、これらの方法はやや繁雑で且つ収量も少いので、著者は他の種種な方法をも比較検討した結果一良法を考案し、これによつて phrenosine の分離を実施した。その方法は、先ず CARTER⁽⁶⁾ に従つて脳髓ではなくて脊髄から sphingolipids*** を分離し、ついで KLENK⁽⁷⁾ の方式を参照しつつ混在する磷脂質と phrenosine 以外の糖脂質を順次除去して phrenosine を単離するのである。かくして得られた phrenosine 標品に各種の試験を行つて純品なることを確認し、更に誘導体として hexamethylphrenosine 及び hexaacetylphrenosine を調製してその化学的性状を追求した。よつてここにその概要を報告する次第である。

実 験

1. Sphingolipids の分離

CARTER⁽⁶⁾ は牛の脳髓から得られる sphingolipids が褐色にして且つ細粒となし難く、収量も 2.8~3.5% であるのに対し、牛の脊髄からのそれは有色物質の少い細粒で 5.0~5.5% の良好な得量を与える故に、sphingo-

* Studies on the Conjugated Lipids Part VI. Isolation of Phrenosine and its Properties

By Yasuhiko FUJINO (Laboratory of Biochemistry, Obihiro Zootechnical University)

** THIERFELDER⁽²⁾ は同一物質を cerebrin と命名し、此の呼称も文献上しばしば現れるが、記載の priority に従つて phrenosine と呼ぶのがよいと思う。

*** THIERFELDER の所謂 protagon⁽⁴⁾ に相当するもので sphingomyelins と cerebrosides を含む。