



纖維質のアルコール化に関する研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2009-08-25 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 辰巳, 忠次 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24729/00009650

纖維質のアルコール化に関する研究

辰 已 忠 次

Studies on the Alcoholization of Cellulose Materials

Chuji TATSUMI

Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture
(Received Sept. 30, 1955)

Summary

Saccharification of various kinds of cellulose materials, including woods and barks of mulberry tree, cotton plant, bog-moss in the tundra of Saghalien, rice and barley straws, rice hulls etc., was carried by dilute sulphuric acid under pressure with an apparatus of Scholler's type which was planned by the author.

It was found that saccharification of cellulose materials, especially of bog-moss is well achieved, if they are removed of humic acid beforehand with diluted ammonia and hydrolysed fractionally.

Among various strains of yeasts, a kind of distilley yeast suitable for fermentation of saccharified solution was selected, and no inhibiting substance to the yeast was detected, though 0.82g of furfural, 0.021g of hydroxymethylfurfural and 3.25g of volatile acids were produced by decomposition of 100g of mulberry tree in the saccharified solutions. Sugars in the solutions were investigated by the method of paper chromatograph and the presence of glucose, mannose, arabinose and xylose was verified.

Thus, in decomposing 100g of bog-moss by dilute acid at 130°C and 150°C, about 30g of sugars was obtained and then about 9g of alcohol was produced by fermentation of saccharified solution. About 33g of sugar and then about 10g of alcohol were obtained by decomposition of 100g of mulberry tree with dilute acid at 180°C.

Production of yeast from the saccharified solutions was investigated, especially pentose-assimilable yeasts (isolated by the author and named *Torulopsis xylinus*). In saccharified solutions from 100g of bog-moss or mulberry tree, about 9.5g or 8.9g of yeast was produced respectively.

In order to know the availability of constituents of the spent wash, distillate waste liquor of the alcohol solution obtained from the saccharified solution of mulberry tree, experiments were carried out. During 120 hours ordinary culture, 1/3 parts of reducing sugars, including more than 2/3 parts of pentose, were consumed. It was pointed out that small amount of organic matters other than sugars was assimilated.

No remarkable multiplication of yeasts took place with sulphite pulp waste liquor from which most of SO₂ was expelled by aeration and the remaining SO₂ was precipitated by adding calcium hydroxide to pH to 5.6 by sulphuric acid, while noticeable crop yields of the yeasts were obtained.

The chemical compositions of *Torulopsis xylinus* (7-9% of ash, 43-47% of crude protein and 0.69 mg% of vitamin B₁) thus obtained were found to be very much the same with *Torula*

utilis obtained from spent washes or pulp waste liquors.

Production of fat with the saccharified solution of mulberry tree was carried out by the yeast (isolated by the author and named Rhodotorula mucilaginosa var.). It was found that at the first stage of fermentation (72 hours incubation) the immediate yeast population was larger in xylose or saccharified solutions as sources of carbon than in other sugars and at the second stage of fermentation (subsequent 24 hours incubation and the stage of fat production from glucose added) fat yield was also greater in the former. The fat-coefficient was more than twenty and the characteristic of fat looked like coconut.

木材を酸によって加水分解して糖を製造する研究は前世紀より行われ¹⁾、約25年前に独乙で工業化されている。その代表的な糖化方式は Bergius 法²⁾と Scholler 法³⁾の両法で比較的大規模に長期間実施されてきたものである。然しながら木材糖化工業は鋸屑、農産廃物等の無価値に等しきものを利用して食飼料或は醸酵工業原料となし得るので極めて有利な工業と考えられるが、酸の回収、耐酸材料の不良、製品收率の不良、原料集荷の困難、設備費及び維持費の割高等の点で従来それ等の原料に使用せられていた澱粉質資源に比し必ずしも有利であったのではなく、各国共国策上特に非常時に於ける食飼料問題を考慮に入れ、この工業の保護育生に努めてきたのである。然るに今次大戦中各國⁴⁾に於て幾多の技術的改良が加えられ安価な酒精が生産されるに至り経済的見地よりも化学工業として確立され得るものと考察できる。我国は戦時より戦後に亘る食飼料窮乏のため醸酵工業原料として澱粉質資源に負うことは甚だ不安な状態であった。従って纖維質資源を酸で加水分解して得られた糖類を酵釀工業原料となし得るならば原料的に安定性を与えるものであると考えられた。実は戦時中燃料 酒精製造のため木材糖化の研究が2, 3行われた^{5), 6), 7), 8)}。然るに濫伐のため森林蓄積量は著しく減少し飛躍的な増産計画が実施されるまでは木材糖化の工業化は甚だ困難である。こゝに於て著者は桑条、稻藁、穀殻、バガス、綿実殻等の農産副産物が年間数千万噸を越え、これが廃棄されたり、肥料飼料等の能率の悪い用途に当てられていること及び北海道草炭が10億噸埋蔵していることに着眼してこれ等を纖維素、ヘミ纖維素資源として糖化原料に利用せんとする研究を企図した。(但しこの研究の初期に於ては樺太ツンドラ地帯の草炭を目標としておった)。糖化によって得られた糖類より醸酵法によって酒精の製造は勿論、菌体の $\frac{3}{4}$ が蛋白質よりなる酵母或は $\frac{1}{2}$ が脂肪である赤色酵母の製造を行い、食飼料の蛋白、脂肪源とすることは食飼料問題打開の一つの強力なる方法を考えるのである。著者はかゝる見地より次の研究を進めた次第である。

第1の研究は糖化方法として Scholler type の Percolation 法を採用し、これが糖化装置の設計並に製作を行って、稀薄酸による糖化理論を確認し、同時に著者の利用せんとする糖化原料の価値を検討した。かくして著者の独創による糖化装置第3号を完成し、各種糖化原料の酸糖化を実施した。

第2の研究は草炭の酸糖化及び糖化液より酒精の製造並に酵母の製造に就て行い、草炭を前処理することによって糖化の容易化と醸酵阻害物質の除去を計り、又分割的糖化によって糖化液中の糖類の高度利用を考察した。

第3の研究は桑条の酸糖化及び糖化液より酒精並に酵母の製造に就て行った。特に糖化液の組成に就ては一般分析法並にペーパークロマトグラフ法によって詳細に検討し、糖化液の合理

的利用を考究した。

第4の研究は稲藁、粉穀、バガス、綿実穀等の農産副産物に就て草炭と同様に酸糖化並に糖化液より酒精の製造を行った。

第5の研究は分割的糖化を行った場合ヘミ纖維素資源より多量のペントースが生成されるが、これが醸酵化学的利用としてペントース同化性酵母の製造が考えられ、従って適応酵母の分離選定を行い、培養条件を決定した。次にペントース含有の工場廃液に応用して酵母の製造を行い、それ等生成酵母の菌体成分の栄養価値を検討した。

以下これ等の研究の成果を報告する。

1. 纖維質の糖化に関する基礎問題

纖維質を稀薄酸で加圧高温下に糖化する場合、纖維質の加水分解と生成葡萄糖の分解の2つの反応が同時に起る。この糖化機構は動力学的に次の関係式で説明される。

$$Z = \frac{ak}{k' - k} (e^{-kt} - e^{k't})$$

但し t 反応時間、 k 糖化反応恒数、 k' 糖分解反応恒数、 a 最初の纖維質の糖化価、 e 自然対数の底、 Z t 時間に於ける糖濃度。生成葡萄糖の収量を増加するには k' を小にすべきであって、纖維質を厚く充填した層を稀薄酸を約8気圧の下に或る速度で流し糖化することによってこの目的が達せられ、木材糖化の工業化の基礎が確立された。著者はこの糖化理論に基いて各種糖化試料と糖化装置並に糖化操作の関係を研究した。他方に於て高温高圧下の稀硫酸に於ける葡萄糖の分解度の測定を行い、次で纖維質糖化液に適する酒精酵母の選択と馴養を行い、“E”菌種を採択した。以上の研究結果は既に日本農芸化学会誌⁵⁾に詳細に発表したので省略する。今回は糖化装置第3号とこれに關聯する糖化、醸酵の研究に就て記述する。

装置は Fig. 1 に図説した。Percolator 及び Acid vessel の容量は夫々 0.5kg, 20kg である。

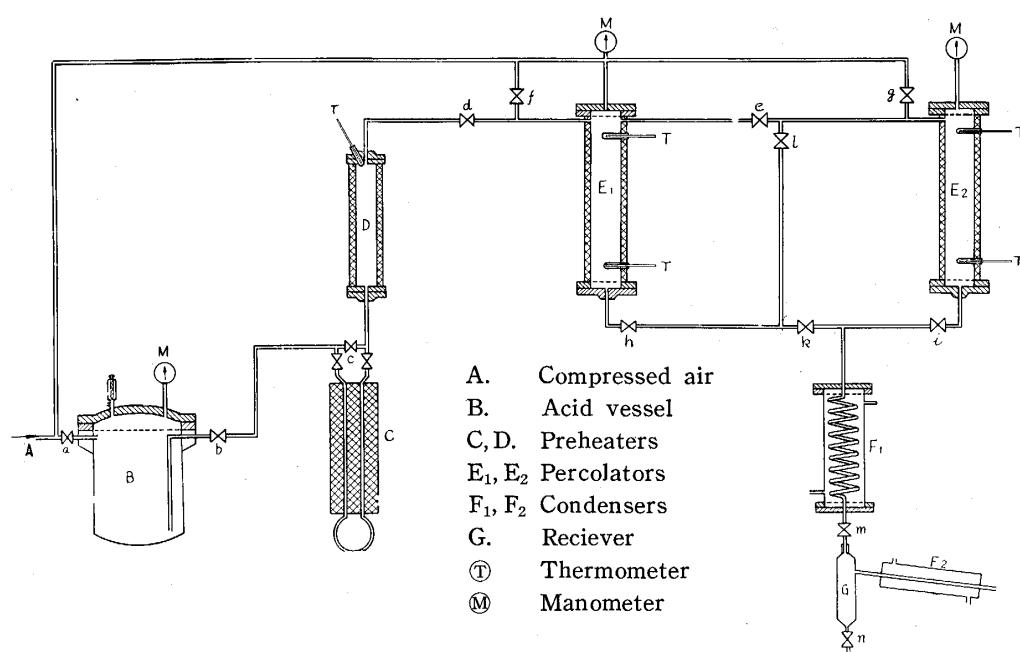


Fig. 1a Wood Hydrolysis Equipment

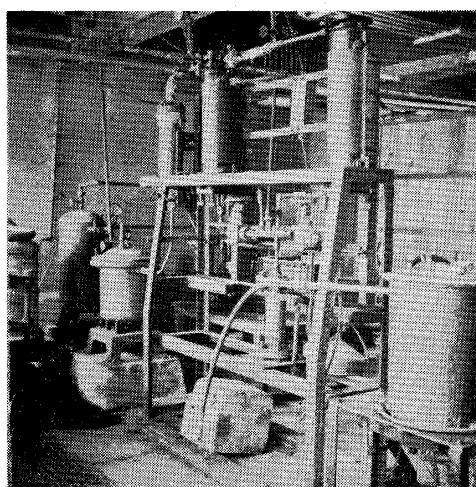


Fig. 1b

Acid vessel の稀薄硫酸溶液は Preheaters にて所要まで加熱加圧されて Percolator に圧送され充填された試料と接触反応して一定時間後に排出され Condenser によって第 1 段の冷却減圧が行われる。この糖化液は約 130°C で Reciever に入りこれに附属している Condenser によって水、揮発酸、フルフロール等が凝縮除去される。更に糖化液は 100°C で Reciever から排出され石灰乳にて高温中和し、濾過してこゝに醸酵原料としての糖化液が得られる。硫酸溶液の Percolator を通過する時間はこの装置に於ては 15~20 分が最適である。

Percolator より糖化液の排出は継続的に行うことの妥当性を認めた。桑条試料 I の糖化試験の

Table 1. Saccharification of Mulberry Tree by Percolation with Dilute Sulfuric Acid

Temperature of Percolator, °C	Saccharified Solution, cc	Percolation Time, min.	Reducing Sugar, g	Sum of Reducing Sugar, g	Reducing Sugar Yield Based on Total Reducing Sugar from 100g of Mulberry Tree, %
160	1000	30	4.10	4.10	
165	1000	15	35.72	39.82	
170	1000	14	33.97	73.79	
175	1000	15	34.16	107.95	
180	1000	20	25.69	133.64	
185	1000	20	18.85	152.49	
185	1000	21	9.50	161.79	
185	1000	15	5.76	167.75	83.87
Total	8000			167.75	83.87

Table 2. Saccharification of Mulberry Tree by Percolation of Two Series

Temperature of 1st Percolator, °C	Temperature of 2nd Percolator, °C	Saccharified Solution, cc	Percolation Time, min.	Reducing Sugar, g	Total Reducing Sugar, g	Reducing Sugar Yield Based on Total Reducing Sugar from 100g fo Mulberry Tree, %
160	150	1000	60	6.70		
165	155	1000	30	47.23		
170	160	1000	25	46.85		
175	165	1000	28	50.11		
180	170	1000	30	32.69		
185	175	1000	30	24.32		
185	160	1000	35	11.83		
185	160	1000	35	10.52	230.21	71.21
Total		8000			230.21	71.21

1例を示せば Table 1. の如くである。

次に糖化液の糖濃度を高め硫酸を節約するため第1の Percolator E_1 から排出された糖化液を冷却減圧せずそのまま第2の Percolator E_2 に送入し(バルブ k を閉じ l を開く)同様に糖化を行い、然る後糖化液を排出して(バルブ i を開く)冷却減圧する操作を行った。理論的にはこの方法のすぐれていることは認められるが実際的には操作上配管の太さ、バルブの大きさ等機械的の不備があって糖化液の圧送が旨く行かないため期待した程良い結果が得られなかった。著者は正確な結果を得るためにこの糖化操作を中止した。この糖化試験の1例を示せば Table 2 の如くである。

2. ツンドラ地帯の草炭の酸糖化及び糖化液より酒精の製造

ツンドラ地帯の草炭の利用に関する研究は相当進んでいるにかゝわらず工業化の点に於て蹉跌をきたしている原因はそれ等の利用法に於て困難な脱水工程を経ねばならない点であった。著者は草炭を脱水せずそのまま使用する方法の一つとして酸糖化を行い、得た糖化液を醸酵化学的に利用せんとする方法を採用した。しかして酸糖化には Scholler type の Percolation を取り入れた。この研究に先立ち次の如き予備的な実験を行った。即ち草炭は Table 3 に示す如くペントサンを多量に含有しているから酸糖化に当って比較的高温度で糖化される纖維素と分割的に糖化すれば夫々糖化液中の糖の分解を防止し同時にそれ等を有効に利用することができると考え、第1段糖化は $120 \sim 140^\circ\text{C}$ 、第2段糖化は $150 \sim 190^\circ\text{C}$ にて行うこととした。生成糖量を増さんため温度、酸濃度、反応時間、酸液量等の糖化に重要な因子間の関係を逐次酸糖化法によって探索した。かくして定めた最適糖化条件の下に得られた糖化液より醸酵法による酒精製造の試験を行った。これ等の実験結果は京大化学研究所報告⁶⁾に詳細に記述した。要約すれば稀薄なるアンモニア溶液にて前処理することによって糖化を容易化し、糖化液の糖濃度を高め、醸酵阻害物質を除去することができ、適当な糖化(第1段糖化 2%, 硫酸 130°C 60分、第2段糖化 0.4~0.6%，硫酸 $150 \sim 185^\circ\text{C}$ 15~30分)と醸酵の条件の下で85%の糖化率と70%の醸酵歩合を示すことがある。

かくして逐次酸糖化法によって得た糖化条件を適切に組合せて分割的な糖化を加味した新し

Table 3. Chemical Analysis of Tundra

Percentage based on Dried Matter	Moisture	16.07
	Dried matter	83.93
	Soluble matter in cold water	28.72
	Soluble matter in 1% solution of NaOH	59.55
	Extract by ethylalcohol and benzene (1:1)	7.54
	Lignin	30.28
	Crude cellulose	34.40
	Crude α -cellulose	24.56
	Pentosan	13.43
	Total nitrogen	0.73
	Ash	3.36
	Reducing sugar I ^a	17.80
	Reducing sugar II ^b	29.91

Note: a. Sugar in the hydrolyzate of tundra with 2.5% solution of HCl

b. Sugar in residue of the hydrolyzation, calculating by the method of Kiesel and Semiganwsky

Table 5. Saccharification of Tundra by Percolation with Dilute Sulfuric Acid at Various Conditions.

Run No.	Time min.	Reducing Sugar in 1000cc of Saccharified Solution g.				Run No.	Time min.	Reducing Sugar in 1000cc of Saccharified Solution g.	
		Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Mean Value			Exp. 2	Exp. 2
1 (A)	20	14.93	19.98	20.52	18.48	5 (A)	60	17.43	
	40	27.98	24.63	22.56	25.58		80	21.98	
	60	19.54	7.47	6.72	10.91		100	20.01	
	80	5.99	4.10	3.43	4.53		120	11.28	
	100	5.59	2.48	2.50	3.57		140	5.73	
	120	4.14	2.11	2.01	3.10		160	5.36	
	Total	77.94	60.75	56.80	65.49		Total	81.79	
1 (B)	20	22.57	23.37		22.97	5 (B)	90	28.86	24.66
	40	19.90	27.33		23.61		110	27.30	26.00
	60	10.22	10.65		11.23		130	20.33	17.41
	100	3.25	5.97		4.61		150	7.17	11.74
	140	2.04	5.01		3.52		170	5.11	5.59
	180	1.74	4.66		3.20		190	4.83	5.01
	Total	59.72	78.99		69.14		Total	93.60	90.41
2 (A)	20	18.90	12.36	20.62	17.39	5 (C)	60	23.37	
	40	17.90	26.25	23.58	23.58		80	25.63	
	60	16.13	16.13	15.56	15.61		100	17.45	
	80	5.35	5.70	5.62	5.51		120	11.31	
	100	3.84	6.25	4.55	4.68		140	7.10	
	120	3.10	4.74	3.62	4.23		160	6.59	
	Total	64.21	73.62	73.55	71.04		Total	91.45	
3 (A)	20	27.27	25.37	20.22	24.26	5 (D)	90	24.16	
	40	30.58	21.34	21.88	24.60		110	26.59	
	60	12.53	15.08	20.80	16.15		130	15.87	
	80	5.11	13.00	7.29	8.47		150	12.43	
	100	4.50	9.55	5.28	6.61		170	9.10	
	120	3.21	5.63	4.45	4.43		190	6.51	
	Total	83.17	89.97	80.42	84.52		Total	94.63	
3 (B)	40	24.51	26.70		25.60	5 (E)	60	33.57	
	80	19.55	25.95		22.65		80	20.86	
	120	9.67	14.72		12.19		100	7.54	
	160	9.59	8.46		9.03		120	5.36	
	200	2.74	8.81		5.62		140	8.21	
	240	2.19	6.01		4.10		160	5.03	
	Total	69.25	90.45		79.11		Total	77.57	
3 (C)	20	29.80	21.92	24.05	25.34	6 (A)	90	30.56	
	40	25.37	23.77	22.16	23.75		110	28.87	
	60	20.74	28.44	20.17	23.11		130	21.66	
	100	9.60	9.79	9.98	9.78		150	10.87	
	140	5.21	6.07	6.94	6.04		170	8.13	
	180	4.91	5.27	5.62	5.26		190	6.04	
	Total	95.63	95.29	98.92	93.23		Total	106.13	
3 (D)	20	23.00	25.89		24.45	6 (B)	60	33.76	
	40	21.61	24.74		23.14		80	30.56	
	60	16.34	19.67		18.02		100	17.46	
	120	14.92	6.66		10.75		120	12.69	
	180	11.00	5.59		8.29		140	6.37	
	140	7.75	5.32		6.54		160	5.06	
	Total	94.62	87.87		91.24		Total	105.90	
4 (A)	20	23.37	25.17	22.07	23.84				
	40	27.33	25.47	23.61	25.47				
	60	12.65	10.94	11.23	11.61				
	80	5.97	5.29	4.61	5.29				
	120	5.01	4.29	3.52	4.26				
	160	4.86	4.10	3.34	4.07				
	Total	79.24	75.24	69.68	74.54				

Table. 4 Conditions of Saccharification

Run No.	H ₂ SO ₄ %	Temperature °C	Percolation Time min. (No. of Cycle)
1 (A)	0.4	170	20 (6)
1 (B)	0.4	170	20 (3) 40 (3)
2 (A)	0.4	160	20 (6)
3 (A)	0.4	150	20 (6)
3 (B)	0.4	150	40 (6)
3 (C)	0.4	150	20 (3) 40 (3)
3 (D)	0.4	150	20 (3) 60 (3)
4 (A)	0.4	150	20 (4)
		170	40 (2)
5 (A)	0.4	150	60 (1)
	0.4	170	20 (5)
5 (B)	0.4	130	90 (1)
	0.4	150	20 (5)
5 (C)	0.8	130	60 (1)
	0.8	150	20 (6)
5 (D)	0.8	130	90 (1)
	0.8	150	20 (5)
5 (E)	2.0	130	60 (1)
	2.0	150	20 (5)
6 (A)	0.4	130	90 (1)
	2.0	150	20 (5)
6 (B)	0.4	150	60 (1)
	2.0	150	20 (5)

い Percolation 法を立案した。その糖化条件を記述すれば Table 4, 5 の如くである。糖化装置第 3 号を使用し、試料草炭は 400g、硫酸溶液は 6l を用いた。

かくして得た糖化液は中和、濾過、栄養分添加の操作を行って醸酵用糖液に調製し酒精酵母によって酒精醣酵を行わしめた。醸酵液は蒸溜によつて酒精を採取した。この実験結果を總括して Table 6 とした。

以上の実験結果から草炭を Percolation 法によつて糖化する最適条件は第 1 段階に於ては 2% 硫酸で 130 °C, 90 分 (Percolation 1 回) の糖化、第 2 段階に於ては 0.4% 硫酸で 150 °C, 20 分 (Percolation 5 回) の糖化で分割的な糖化条件が必要である。糖化液は 130 °C で Reciever に排出され水蒸気竈にフルフロール等を可及的に排除し、石灰乳で熱時中和し濾過する。こゝに得た糖化液は

Table 6. Fermentation of Sugars Resulting from the Saccharification of Tundra

Run No.	Conditions of Saccharification			Reducing Sugars Produced from 100g of Tundra g	Reducing Sugars Yield Based on Total Reducing Sugars from 100g of Tundra %	Reducing Sugars Concen. %	Sugar Fermented %	Alcohol Yield from 100g of Tundra g (cc)
	H ₂ SO ₄ %	Temper-ature °C	Time min. (No. of Cycle)					
I	0.4	130	90 (1)	31.87	66.59	3.22	78.22	9.51 (11.98)
	0.4	150	20 (5)					
II	0.4	130	90 (1)	32.83	68.72	3.27	80.28	9.55 (12.09)
	0.4	150	20 (5)					
III	2.0	130	90 (1)	33.19	69.49	3.29	78.86	9.85 (12.41)
	0.4	150	20 (5)					
IV	2.0	130	90 (1)	31.81	66.60	3.22	79.09	9.06 (11.41)
	0.4	150	20 (5)					
V	2.0	130	99 (1)	31.42	68.76	6.49	70.42	8.67 (10.92)
	0.4	150	20 (5)					
VI	2.0	130	90 (1)	32.21	67.42	6.67	70.55	8.92 (11.24)
	0.4	150	20 (5)					
VII	0.4	150	20 (3) 40 (3)	27.52	57.60	3.51	77.36	8.32 (10.49)
VIII	0.4	150	20 (3) 40 (3)	27.88	58.90	3.63	75.48	8.34 (10.50)

糖濃度約3%で阻害作用なく若干の栄養分の添加(KH_2PO_4 0.2g, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 0.2g, MgSO_4 0.1g malt extract 15cc/100cc)することによって酒精醸酵に利用できる。酒精酵母は比較的多量に接種(100mg/100cc)し, 30°Cで30時間醸酵せしめる。その結果草炭100部から酒精9部を生産することができた。かくして草炭は酒精製造の糖化原料として利用できることが確認できた。尚糖化液の濃度は醸酵阻害作用を超すから自ら限度がある。従って糖化液採取量の極限が過大となってはならぬ。又糖蜜等の添加によって糖濃度を高めることができる。

3. 桑条の酸糖化及び糖化液より酒精の製造

桑条は蚕業地に於て多量に得られ徒らに燃料として焼失されているのみならず、パルプ原料としては韌皮部のみ価値があり他部は寧ろ糖化して糖化液を醸酵工業に利用すれば有意義と考えられる。掲題の研究を行うに当つて、糖化装置第1, 2号によつて予備実験を行い既に詳細に報告⁵⁾した。今回は糖化装置第3号によつて本格的な Percolation 法による実験を行つた。糖化並に醸酵操作はすべて草炭の場合と同様である。試料の纖維素含量は Table 7 に示す。

Table 7. Cellulose Content of Mulberry Tree

Mulberry Tree (No. of Sample)	Moisture %	Dried Matter %	Percentage based on Dried Matter			α -Cellulose in Total Cellulose
			Extract of EtOH and Benzene (1:1)	Total Cellulose	α -Cellulose	
(I) Saw Dust	8.01	91.99	15.09	55.93	39.09	69.83
(II) Bark Dust	7.53	92.47	19.82	47.96	39.21	81.75
(III) Dust of Part Left out Bark	8.70	91.30	14.39	56.17	39.09	67.71

予備実験の結果を参照して糖化条件を検討した結果, 0.4%硫酸, 160~180°C, 20分(Percolation 8回)の加熱分解を最適糖化条件と認めた。糖化液は草炭と同様に処理して酒精醸酵に利用できる。接種酵母量は100mg/100ccで, 30°Cで30時間醸酵せしめる。実験結果はTable 8.に表示した。その結果桑条100部から酒精11部を生産することができた。かくして桑条は酒精製造の糖化原料として利用できることが確認できた。

Table 8. Fermentation of Sugars Resulting from the Saccharification of Mulberry Tree

Run No. (No. of Sample)	Conditions of Saccharification			Reducing Sugars Produced from 100g of Sample g	Reducing Sugars Yield Based on Total Reducing Sugars from 100g of Sample %	Reducing Sugars Concn. %	Sugar Fermented %	Alcohol Yield from 100g of Sample g (cc)
	H_2SO_4 %	Temper °C	Time min. (No. of Cycle)					
1 (I)	0.4	160~180	20 (8)	33.55	83.87	5.06	73.25	11.36 (14.38)
2 (II)	0.4	160~180	20 (8)	30.72	77.34	4.61	70.62	9.91 (12.54)
3 (III)	0.4	160~180	20 (8)	32.94	82.72	4.94	71.50	10.83 (13.71)
4 (Scholler Experiment)	—	—	—	35.00	85.00	—	80.00	16.00 (20.25)

桑条酸糖化液を醸酵工業に利用する場合には糖化液に含有されている成分が如何なる影響を与えるか又栄養分の添加が如何に必要であるか等の諸点に就て検討する必要がある。即ち

(1) 桑条酸糖化液の酒精醣酵に於ける各種栄養分添加の影響

この実験結果の概要を掲げる。実験に使用した糖化液は前記の Percolation 法によって作成したもので（糖濃度3.5%）無機栄養として $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, K_2HPO_4 , MgSO_4 , 有機栄養として麦芽汁を添加しその酒精醣酵に及ぼす影響を検討した。即ち $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 何れも窒素栄養として 0.2g/100cc が添加の限界である。 K_2HPO_4 は 0.2g/100cc が最適添加量である。有機栄養の添加は正常醣酵を行わしめるに必要であることを認めた。

(2) 桑条酸糖化液の組成

木材を酸糖化して得られた糖化液の成分は木材を構成する成分の加熱分解生成物及びそれ等の第2次的変化による生成物と考えられる。従って木材糖化液の成分は複雑なものである。著者は桑条酸糖化液の組成を従来の分析法によって研究した結果を本紀要に於て詳細に報告⁹⁾したがその概要を掲げる。試料糖化液は前項のものと同一である。醣酵阻害物質であるフルフロール等の存在を確認したがその含量は有害作用を呈する程度ではない。次に Percolation 法によるにかゝわらず2次的な分解縮合が起つてフミン物質が相当生成されていることを認め、これが糖化液の組成を複雑にしているものと思考される。糖類としてはマンノース、アラビノースを分離確認し、グルコースは定性確認したが単離証明できなかった。しかし糖類として分離したものの約80%が醣酵性であることを知得した。（Table 9）

Table 9. Chemical Analysis of Saccharified Solution of Mulberry Tree

Saccharified solution from 400g of Mulberry Tree	5000cc
Solid matter	186.00g
Ash	17.25g
Reducing Sugar (concn.)	167.75g (3.39%)
Pentose (concn.)	31.75g (0.61%)
Nitrogen (concn.)	0.385g (0.0077%)
Residue of Saccharified Solution by Steam Distillation	
Reducing Sugar (concn.)	130.55g (2.61%)
Pentose (concn.)	11.60g (0.23%)

(3) 桑条酸糖化液のペーパークロマトグラフィー

ペーパークロマトグラフィーによる微量分析法の発展に伴い、糖化液の成分の検索を行って、従来の分析結果と比較検討せんとする。特にこゝでは酒精醣酵に関係の多い成分たる糖類に就て研究を行った。著者はペントースとヘキソースとの発色に明確なる区別を示す Horrocks のベンチジン法¹⁰⁾を採用した。

濾紙は東洋濾紙 No. 50, 装置は Dent 装置、溶剤は 1) フェノール 8 : 水 1. 2) アセトン 13 : 醋酸 3 : 水 5, 3) イソプロピルアルコール 1 : プタノール 1 : 水 1, 4) ピリヂン 2 : プタノール 3 : 水 1.5, 発色剤は Horrocks のベンチジン液、展開法は1次元である。

試料糖化液は逐次糖化法によるもの（Table 10）、Percolation 法による糖化液（そのまゝ、中和液、醣酵蒸溜残液）及びブナ原料の亜硫酸パルプ廃液（中和液、醣酵蒸溜残液）の3種類

Table 10. Successive Saccharification of Mulberry Tree

Run No. of Saccharification	Conditions of Saccharification				Saccharified Solution cc	Sugar Concn. %
	H ₂ SO ₄ %	H ₂ SO ₄ cc	Temperature °C	Time min.		
1st run	0.5	385	160	15	520	0.99
2nd run	2.0	200	170	30	370	1.33
3rd run	2.0	120	170	30	270	1.17
4th run	2.0	70	170	30	228	1.54

である。

これ等のペーパークロマトグラフィーの Rf 値を示せば Table 11 の如くである。

Table 11. Rf values of sugars in various saccharified solutions.

Developer Saccha- rified Solution	Phenol 8 H ₂ O 2	Pyridine 2 <i>n</i> -BuOH 3 H ₂ O 1.5	Acetone 13 AcOH 3 H ₂ O 5	<i>iso</i> -PrOH 1 <i>n</i> -BuOH 1 H ₂ O 1	Corresponding Sugars	
I	1st run	50	17 ¹⁾ , 42, 46, 51, 56 ²⁾	58 ⁴⁾ , 64	17 ¹⁾ , 38	Glucose, mannose, arabinose, xylose
	2nd run	35 ⁵⁾ , 34 ³⁾	17 ¹⁾ , 42, 46, 51, 56 ²⁾	61, 66	38, 44	Glucose, mannose, arabinose, xylose
	3rd run	35 ⁵⁾	47	62	36	Glucose
	4th run	35 ⁵⁾	45 ³⁾	62	36	glucose
II	(o) No treat- ment		42, 47, 57 ²⁾	62	38	Glucose, arabinose
	(a) After neu- tralization		42, 47, 52, 57 ²⁾	62	33, 38	Glucose, mannose, arabinose
	(b) After alc. fermentation		42, 51, 57 ²⁾		34	Arabinose, xylose
III	(a) After neu- tralization		42, 51, 56 ²⁾			Glucose, mannose
	(b) After alc. fermentation		42, 56 ²⁾			Glucose

Note : For spray reagent Horrock's benzidine reagent is used.

- 1) These spots are suggested to correspond to gentiobiose which is not tested.
- 2), 3), 4), and 5) These spots are never recorded but these are supposed to be polymers of sugar.

桑条糖化液中の糖類としてペーパークロマトグラフィーでグルコース、マンノース、アラビノース、キシロースの存在を確認した。糖化液の酒精醣酵蒸溜残液中に残存する糖類はアラビノース、キシロースであることが明かとなった。更に前述の桑条糖化液が醣酵性糖類を含有し酒精醣酵に於て約75%の醣酵率を示し、酒精醣酵蒸溜残液によるペントース同化性酵母の培養（後述）に於て約50%の糖同化率を示す事実は上記の桑条糖化液中の糖類の検索によってそのよって来る所が明白となった。逐次糖化液に於てゲンチオビオースに近い spot が表わされている。ピリシン、ブタノール、水展開剤に於て3種類の糖化液の何れもが spot 56 を表わしているがこれは不明である。その他2, 3の不明の spot が存在するが木材糖化が酸の存在に於て高温高圧下で行われることによって糖類の生成、重合が起つて複雑なる化合物の生成に基因すると考察される。非醣酵性の還元性物質として微生物学的には利用されないものである。これ

等に就ては更に詳細なる研究が必要である。

4. 数種の農産副産物の酸糖化及び糖化液より酒精の製造

稲藁、麦稈、穀殻、バガス、リンター等は農産副産物として利用の途が多く考えられ、糖化原料としては余り期待されていない。現在までに多少行われてきた糖化試験は密閉糖化法によったものである。著者は既述の草炭の糖化試験の結果から、これ等の纖維質原料に Percolation 法を適用して糖化原料としての価値を認定せんとした。著者の糖化装置第3号を使用し分割的な糖化を加味した新しい Percolation 法によって可成有望な結果を得た綿実殻、稻藁、穀殻、バガスに就てこゝに述べんとする。

糖化方法は草炭の場合と全く同様な Percolation 法で試料は何れもペントザン含量多く特に分割的な糖化に重点を置いた。各試料によって糖化条件を異にするから夫々実験結果と共に記述した。各試料の成分を Table 12 に示す。

Table 12. Chemical Analysis of Various Kinds of Cellulose Material.

	Moisture %	Reducing Sugar I %	Reducing Sugar II %	Ash %
Hull bran	12.33	18.77	50.32	4.64
Rice straw	13.15	14.93	36.18	16.60
Rice hull	12.20	16.22	38.25	17.11
Bagasse	10.11	25.62	45.39	2.50

上記の如くして得られた綿実殻、稻藁、穀殻、バガスの各糖化液は蒸気溜を経て熱石灰乳で中和し、濾過し、糖濃度 4% の酵酛用糖液とする。草炭の場合と同様に栄養分の添加を行い、常法により殺菌し、種酵母を接植して 48 時間酒精醣酵を行わしめて後生成酒精及び残糖の定量を行った。その結果は Table 13, 14 に示す。

Table 13. Saccharification of Various Kinds of Cellulose Material

Sample	Run No.	Conditions of Saccharification			Reducing Sugars Produced from 100g of Sample g	Reducing Sugars Yield Based on Total Reducing Sugars from 100g of Sample %
		H ₂ SO ₄ %	Temperature °C	Time min. (No. of Cycle)		
Hull bran	1	2.0 2.0 0.2	130 150 170	30 (1) 30 (3) 15 (3)	55.33	80.07
	2	2.0 2.0 0.2	130 150 170	60 (1) 60 (3) 30 (3)	57.99	83.81
	3	0.4 0.4	130 170	90 (1) 15 (3)	47.13	72.61
	4	2.0 0.4	130 170	90 (1) 15 (3)	47.23	72.85
Rice straw	5	0.4 0.4	130 170	90 (1) 15 (3)	48.18	69.48
	6	2.0 0.4	130 170	90 (1) 15 (3)	47.86	70.05
Rice hull	7	0.4 0.4	130 170	90 (1) 15 (3)	50.11	70.57
	8	2.0 0.4	150 170	90 (1) 15 (3)	55.76	78.53
Bagasse						

Table 14. Fermentation of Sugar Resulting from Saccharification of Various Kinds of Cellulose Material.

	Reducing Sugars Concn. g/100cc		Sugar Fermented %	Alcohol Concn. g/100cc	Alcohol Yield, from 100g of Cellulose Material
	Start	Final			
Hull bran	4.00	0.98	75.50	1.48	11.10
Rice straw	4.00	1.25	68.75	1.34	9.95
Rice hull	4.00	1.30	67.50	1.32	10.47
Bagasse	4.00	1.06	73.50	1.44	10.08

試料は何れもペントザン含量多く従って比較的低温度で比較的酸濃度を高くして糖化を行って草炭の場合と同様に相当量の糖生成を見ることができた。爾後漸次糖化温度を上昇せしめると共に酸濃度を低下せしめ纖維質の糖化条件に接近せしめて糖化を行って相当量の糖生成を見ることができた。即ち分割的な Percolation 法によって糖化を行えば上記の 4 試料は何れも約 70 % の糖化率を示し、糖化液の糖濃度（醸酵用）は 4 % を保持している。醸酵歩合は約 70 % を示している。試料 100 部より生成される酒精は綿実殻 11 部、稻藁、糀殻、バガス各々 10 部である。著者の実験結果からこれ等 4 試料は糖化原料並に醸酵原料として経済的に利用可能であると考察する。

5. 纖維質の酸糖化液による食飼料酵母の製造

酵母の一般的組成は乾燥物中蛋白質 45%，脂肪 5%，グリコーゲン 22%，酵母ゴム 6.5%，ペントザン 2.5%，灰分 8% で多量の蛋白質を含み且つその栄養価が高いので食飼料として価値が高い。以前は麦酒酵母がこの目的に利用されたが、近来は薬用として余す所なく、食飼料の酵母は糖蜜や木材糖化液¹¹⁾を製造原料としたものが利用されるようになった。著者は纖維質のアルコール化に関する研究に当って酸糖化液による酵母製造を考え、我国の現状として木材糖化は或は十分に望まれないかも知れないが草炭、桑条、藁、糀殻等の多量にヘミ纖維素を含む物質は木材より糖化が容易であるからペントース同化力の強い Torulopsis 属の酵母を使用すれば実施可能であると考察される。

(1) 草炭の酸糖化液による酵母製造

既述の如く草炭を Percolation 法によって酸糖化して得た糖化液を使用して酵母の製造を行った。糖化液（酒精醸酵用糖液に譲製せるもの）に栄養分 ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.6g, KH_2PO_4 0.2g, K_2HPO_4 0.032g, NaCl 0.1g, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 0.08g, MgSO_4 0.14g, オリザニンエキス 0.025cc) を 100cc

Table 15. Growth of Yeasts in Saccharified Solution of Tundra.

Run No.	Initial Reducing Sugar %	Glucose Added g/100cc	Final Reducing Sugar %	Sugar Consumed %	Final Yeast g/100cc	Yeast on Consumed Reducing Sugar %	Yeast Yield from 100g of Tundra
1	1.216	0	0.191	84.30	0.374	36.49	9.12
2	1.216	0	0.196	83.88	0.391	38.14	—
3	1.216	0.500	0.202	88.23	0.663	43.79	—
4	0	1.500	trace	100.00	0.718	47.86	—

に) 添加し, *Torula utilis* を接種して24時間通気培養を行った結果, 糖同化率84%, 対糖酵母収率36%以上を示し, 葡萄糖添加により培養試験に於て阻害物質の存在は認められなかった。要するに草炭100部から酵母9部が得られる。実験を例示すればTable 15である。

(2) 桑条の酸糖化液による酵母製造

既述の如く桑条をPercolation法によって酸糖化して得た糖化液を使用して酵母の製造を行った。培養液の調製並に培養方法は草炭の場合に準ずる。実験結果を例示すればTable 16である。即ち糖同化率80%, 対糖酵母収率37%以上を示し, 阻害物質の存在は認められなかった。

Table 16. Growth of Yeasts in Saccharified Solution of Mulberry Tree.

Run No.	Initial Reducing Sugar %	Glucose Added g/100cc	Final Reducing Sugar %	Sugar Consumed %	Final Yeast g/100cc	Yeast on Consumed Reducing Sugar %	Yeast Yield from 100g of Sample
1	1.005	0	0.200	80.51	0.303	37.64	8.40
2	1.005	0	0.192	80.89	0.299	36.78	—
3	1.005	0.500	0.204	86.44	0.530	40.73	—
4	0	1.500	trace	100.00	0.703	46.90	—

次に糖濃度, 接種酵母量, 栄養分添加量の各影響について詳細に検討した。その結果は夫々Table 17, 18, 19, 20に示した。

Table 17. Effect of Concentration of Sugar on its Utilization and Yeast Yields.

Run No. Incub. hrs.	Reducing Sugar %			Sugar Consumed %			Yeast Produced g/100cc			Yeast Yield on Consumed Reducing Sugar %		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	1.510 ^a	1.005 ^a	0.755 ^a	—	—	—	0.060	0.060	0.060	—	—	—
6	1.001	0.698	0.600	—	—	—	0.110	0.112	0.106	—	—	—
12	0.801	0.432	0.334	—	—	—	0.228	0.195	0.153	—	—	—
18	0.666	0.323	0.248	—	—	—	0.310	0.261	0.193	36.73	38.23	38.00
24	0.351	0.239	0.196	—	—	—	0.406	0.297	0.204	35.46	38.74	36.49
48	0.294	0.193	0.157	80.51	80.80	79.20	0.453	0.309	0.216	37.25	38.05	36.68

a Initial Concentration of Sugar

Table 18. Effect of Concentration of Inoculum on Sugar Utilization and Yeast Yields

Run No. Incub. hrs.	Reducing Sugar %			Sugar Consumed %			Yeast Produced g/100cc			Yeast Yield on Consumed Reducing Sugar %		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	1.005	1.005	1.005	—	—	—	0.021 ^a	0.063 ^a	0.126 ^a	—	—	—
6	0.738	0.701	0.547	—	—	—	0.076	0.098	0.181	—	—	—
12	0.517	0.446	0.374	—	—	—	0.153	0.181	0.221	31.78	32.38	35.02
18	0.356	0.301	0.255	—	—	—	0.228	0.252	0.282	35.51	35.79	37.60
24	0.270	0.259	0.226	—	—	—	0.262	0.280	0.309	35.64	37.53	38.76
48	0.211	0.195	0.196	79.01	80.59	81.09	0.298	0.312	0.309	27.53	38.52	37.91

a Initial Concentration of Inoculum

Table 19. Effect of Ammonium Sulfate as Source of Nitrogen.

Run No.	Nitrogen in Saccharified Solution mg/100cc	Ammonium Sulfate Added mg/100cc	Ammonium Sulfate Added mg/100cc	Ammonium Sulfate Based on Reducing Sugar %	Incubation					
					12 hrs		24 hrs		48 hrs	
1	5	21	100	10	0.501	0.145	0.336	0.250	0.280	0.264
2	5	42	200	20	0.470	0.170	0.275	0.262	0.250	0.280
3	5	63	300	30	0.457	0.176	0.264	0.274	0.232	0.294
4	5	84	400	40	0.465	0.171	0.288	0.288	0.255	0.282
5	5	105	500	50	0.473	0.178	0.272	0.272	0.257	0.281

Table 20. Effect of Potassium bishydrogen phosphate as Source of Phosphor.

Run No.	Potassium bishydrogen Phosphate Added mg/100cc	Potassium bishydrogen Phosphate Based on Reducing Sugar %	Incubation			
			24 hrs		48 hrs	
1	5	0.5	0.332	0.247	0.254	0.282
2	10	1	0.284	0.260	0.230	0.290
3	20	2	0.271	0.268	0.225	0.301
4	40	4	0.262	0.280	0.233	0.292

即ち培養液の糖濃度は 1%を適當と認め、接種酵母量は 24 時間培養せるものを 63mg/100cc 以上を必要とし、添加すべき栄養分は窒素源として、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、磷酸源として KH_2PO_4 を対糖夫々 30%，2%で充分であることを知った。かくして桑条 100 部から酵母 8.4 部が得られる。

草炭、桑条は酸糖化原料として価値があり、それ等の糖化液から生成された酵母の組成は通常の酵母と差異がないので食飼料酵母として有用であることが認められた。

(3) 一新ペントース同化性酵母 *Torulopsis xylinus*

ペントースは重合してペントザンの形で自然界に広く分布し主としてヘミ纖維素を構成している。木材、稲藁、草炭、種子等に多量に含まれているから、これ等の酸糖化液或はペントースを含む工場廃液を利用することは原料上から又経済上から重要な意義を持つものである。同時に廃液の B.O.D. に関してもペントースの利用は重要な問題である。ペントースの醸酵化学的な利用の一方面としてペントース同化力の強い酵母によって資化させることである。従ってかかる酵母の分離を行い、掲題の菌種を発見し、その同定を行った¹¹⁾。

Table 21. Growth of Yeast in Xylose Solution.

Strains	Before Incubation		After Incubation		Xylose Assimilated %	Yeast Produced g/100cc	Yeast on Consumed Sugar %
	pH	Xylose %	pH	Xylose %			
T. xylinus a	5.4	1.580	5.4	0.080	94.42	0.61	40.30
〃 b	5.4	1.580	5.2	0.250	84.21	0.58	43.60
〃 c	5.4	1.580	5.2	0.143	90.93	0.51	35.89
T. utils	5.4	1.580	5.4	0.173	88.49	0.48	33.43

Table 22. Chemical Analysis of Yeast.

Strains	Ash %	Crude Protein %	Crude Fat %
T. xylinus a	5.51	47.62	3.96
〃 b	5.51	49.67	2.82
〃 c	4.83	48.07	2.88
T. utilis	5.82	43.95	3.20

次にペントース合成培地、桑条酸糖化液、酒精蒸溜廃液、亜硫酸パルプ廃液による該酵母の製造を行い、生成酵母の組成を *Torula utilis* と比較検討した。

ペントース合成培地（キシロース 1.5g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.2g, KH_2PO_4 0.2g, MgSO_4 0.1g, ペプトン 0.05g, 麦芽汁 3cc を蒸溜水で 100cc とするによる培養試験は Table 21, 22 に示す。

桑条酸糖化液による培養試験は Table 23 に示す。即ち既述の *Torula utilis* の培養試験に比較して糖同化率、対糖酵母収率が良好である。

Table 23. Growth of Yeast in Saccharified Solution of Mulberry Tree.

Strains	Initial Reducing Sugar %	Final Reducing Sugar %	Sugar Consumed %	Yeast Produced g/100cc	Yeast on Consumed Sugar %
T. xylinus a	1.005	0.173	82.78	0.328	39.51
〃 b	1.005	0.191	80.99	0.303	37.32
〃 c	1.005	0.185	81.59	0.318	38.87

酒精蒸溜廃液（桑条酸糖化液の酒精醣酵蒸溜廃液）による培養試験は Table 25, 26, 27, 28 に示す。尚廃液の組成は Table 24 に示す。

桑条酸糖化液の酒精醣酵蒸溜廃液中の還元糖は酵母によって約 1/3 同化され、ペントースがその 2/3 以上を占めている。同時に還元糖以外の有機物も多少同化されていることが認められた。

廃液には阻害作用を呈するものは存在しないようであつて、栄養分として $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ が有効で KH_2PO_4 はあまり影響がない。然し廃液に於ては通常の培地より接種酵母が多量を要し且つ培養期間が長引くようである。消費された有機物に対する酵母収量は 40~46% で、酵母組成は木材糖化液、亜硫酸パルプ廃液より得たものと大差ないが、ビタミン含量は非常に少い。

Table 24. Chemical Analysis of Distillery Waste Liquor.

Solid matter	3.058 g/100cc
Ash	1.015
Organic matter	2.043
Reducing Sugar	0.993
Pentose	0.480
Nitrogen	0.084

Table 25. Growth of Yeast in Distillery Waste Liquor.

Incubation	12 hrs		18 hrs		24 hrs		36 hrs		
	Yeast Produced g/100cc	Sugar Remained %	Yeast Produced g/100cc	Sugar Remained %	Yeast Produced g/100cc	Sugar Remained %	Yeast Produced g/100cc	Sugar Consumed %	Yeast on Consumed Sugar %
T. xylinus a	0.085	0.863	0.190	0.781	0.240	0.692	0.276	0.580	41.58
〃 b	0.135	0.833	0.159	0.817	0.249	0.682	0.253	0.603	39.31
〃 c	0.200	0.821	0.273	0.755	0.285	0.648	0.271	0.512	49.49
T. utilis	0.136	0.843	0.229	0.763	0.265	0.636	0.244	0.546	54.62

Table 26. Assimilation of Organic Matter in Distillery Waste Liquor.

Strains	After 36hrs Incubation			Consumed Organic Matter g/100cc	Yeast on Total Organic Matter %	Total Nitrogen %	Consumed Nitrogen g/100cc	Consumed Nitrogen on Total Nitrogen %
	Solid Matter %	Ash %	Organic Matter %					
T. xylinus a	2.281	0.883	1.398	0.645	41.37	0.058	0.027	31.48
〃 b	2.326	0.802	1.425	0.618	40.91	0.056	0.028	33.49
〃 c	2.366	0.910	1.456	0.587	46.13	0.059	0.025	30.16
T. utilis	2.339	0.857	1.482	0.561	43.49	0.057	0.027	32.07

Table 27. Assimilation of Pentose in Distillery Waste Liquor.

Strains	Pentose Concentration %		Pentose Consumed %
	Initial	Final	
T. xylinus a	0.470	0.111	75.26
〃 b	0.470	0.116	79.85
〃 c	0.470	0.090	76.45
T. utilis	0.470	0.096	79.49

Torulopsis xylinus は T. utilis

に比して優秀であって、これを使
用して廃液から食飼料酵母を製造
することの価値を認めた。亜硫酸パルプ廃液による培養試
験は Table 30 に示す。尚廃液は
通気によって遊離 SO₂ を除去し

Table 28. Chemical Analysis of Yeast

Strains	Moisture %	Ash %	Crude Protein %	Vitamin B ₁ γ/g
T. xylinus a	7.80	8.70	40.25	6.9
〃 b	8.00	6.90	43.56	10.8
〃 c	7.90	6.80	40.24	8.7
T. utilis	7.95	7.90	39.37	7.8

石灰で中和して清澄した。その組
成は Table 29 に示す。

廃液に窒素源の添加が必要であ
り有機物特に麦芽根の温水抽出液
の添加が酵母の生成に良好なる結
果を与えることを知った。培養時
間は12時間で充分であって Tor-
ulopsis xylinus C が最適菌種と
認めた。廃液 1l から約 6g の酵
母が得られ、酵母組成は粗蛋白
42.72%，粗灰分 6.20% であって

飼料酵母として利用できることが認められた。尚廃液の使用に当って生成酵母への石灰混入に
留意すること、栄養分添加費用の相当大なることを充分検討すること、種酵母の培養に就て充
分研究することを必要とする。

Table 29. Chemical Analysis of Sulfite Waste Liquor

	Before Treatment	After Treatment
Acidity	—	2.15 cc/100cc
pH	3.8	4.0
Solid Matter	13.848 g/100cc	14.090 g/100cc
Ash	0.988	1.030
Organic Matter	12.860	13.060
Nitrogen	—	0.012
Reducing Sugar	3.235	3.280
Pentose	—	1.150
Free SO ₂	1.980	0.990
Lignin	—	4.453

(4) 一新赤色酵母 *Rhodotorula mucilaginosa* Var. に就て

酵母を利用する蛋白質の合成は既に工業化されているが、油脂の合成は今次大戦に於て漸く

Table 30 Growth of Yeast in Sulfite Waste Liquor

Run No.	Strains	Sugar Cons. %	Addition of Nutriments					Incubation hrs.					
			Potassium Ammonium bishydrogen Phosphate sulfate g/100cc	Pressed juice of Sw-ice of Potato bran cc/100cc	Water Extract of Malt root cc/100cc	Yeast Produced mg/100cc	3	6	9	12	Yeast Produced mg/100cc	Sugar Remained mg/100cc	Yeast Produced mg/100cc
1	T. xylinus a	2.400					87	80	70	43	2080		
2	# b	"					79	58	53	25	2080		
3	# c	"					80	60	54	41	2080		
4	a	1.400	0.200	0.100			66			127	198	706	
5	b	"	"	"			61			129	253	764	45.44
6	c	"	"	"			88			205	392	706	49.57
7	a	1.740	"	"	5		59			181	241	106	54.25
8	b	"	"	"	5		66			194	245	698	62.76
9	c	"	"	"	5		89			262	411	746	56.09
10	a	1.880	"	"		5A			50	48	63	1300	30.31
11	b	"	"	"		5A			82	193	251	1140	39.36
12	c	"	"	"		5A			80	254	340	919	51.14
13	c	2.294	"	"			1B			319	319	1000	50.54
14	c	"	"	"			3B			366	350	880	61.64
15	c	"	"	"			1C			319	312	1240	64.00
16	c	"	"	"			3C			386	389	1000	50.54
17	c	"	"	"			1D			300	296	1240	64.35
8	c	"	"	"			3D			337	350	1120	51.18
													68.39

Note : A. Extract of rice bran with water by five times at room temperature for 12hrs.

B. Extract of rice bran with water by six times under 30°ls for half an hour

C. Extract of rice bran with water by six times at 40°C for forty-five minutes

D. Extract of rice bran with water by six times at 100°C for an hour

研究が進み工業化されつゝある。著者も亦各種酸糖化液から酵母によって油脂の生産を計り、他方カロチンの生成機構を解明せんとし掲題の酵母を分離同定した。該酵母を使用して合成培地による油脂生産の条件を決定し、炭素源としてキシロースの利用が認められ、木材糖化液並に亜硫酸パルプ廃液による油脂生産の可能性を明かにした。これ等に関する実験結果を次に示す。

各種糖類による油脂、カロチンの生産 (Table 31)

基本培地	KH_2PO_4	1g	CaCl_2	0.5g	Sugar	30g
	MgSO_4	1g	FeCl_3	0.01g	B_1	250g
	NaCl	0.5g	Asparagine	2g	Water	1000g

Table 31. Fat Production from Sugars by *Rh. mucilaginosa* var.

Sugars	Yeast Produced g/100cc	Content of Fat %	Fat-coefficient	Content of Carotene γ%
Glucose	0.904	35.75	10.77	3.50
Maltose	0.941	34.75	10.90	3.20
Fructose	0.913	35.12	10.69	3.60
Xylose	1.082	25.44	9.18	2.78
Sucrose	0.879	20.50	6.01	3.82

キシロース、蔗糖は油脂含量少い。窒素源はアスパラギン、グルタミン酸、グリシンが良く、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ は悪い、CN 比率は葡萄糖とアスパラギンに於て40~50が菌体収量、油脂含量、カロチン含量共に最高で一定することを知った。

キシロースを炭素とした場合の油脂生産 (Table 32)

菌体増殖期にキシロースを炭素源として使用し、油脂生成期に葡萄糖を添加する2段的な培養方法を採用した。

Table 32. Growth of Yeast in Xylose Solution and Fat Production

Run No.	First Incubation		Secondary Incubation		Yeast Produced g/100cc	Content of Fat %	Fat- Coefficient	Sugar Remained g/100cc
	Xylose concn. g/100cc	Incubation time, day	Glucose Added g/100cc	Incubation time, day				
1	3.000	3	0	0	1.129	38.7	14.6	—
2	3.000	3	0	1	1.076	40.2	14.4	—
3	3.000	3	1.000	1	1.592	53.6	21.4	—
4	3.000	3	2.000	1	1.721	58.4	20.1	0.36

上記の2実験結果より油脂生成に於てキシロースが菌体生成のために利用せられることが認められた。

桑条の酸糖化液による油脂生産 (Table 33)

既述の Percolation 法による桑条酸糖化液を使用して酵母の製造を行った。培地の調製は酒精製造の場合に準じ栄養分として基本培地の栄養分を添加した。前実験に於けるが如く2段的な培養方法を行った。

Table 33 Growth of Yeast in Saccharified Solution of Mulberry Tree and Fat Production

Run No.	First Incubation		Secondary Incubation		Yeast Produced g/100cc	Content of Fat %	Fat- Coeffecient	Sugar Remained g/100cc
	Sugar concn. g/100cc	Incubation time, day	Glucose Added g/100cc	Incubation time, day				
1	3.000	3	0	0	0.880	44.1	14.84	0.400
2	3.000	3	1.000	1	1.273	46.5	16.40	0.390
3	3.000	3	2.000	1	1.117	42.2	16.23	0.481

木材糖化液に於ても該酵母による油脂生産が可能であることが認められた。特に残糖が酒精製造に於けるより少いことはペントースの利用されていることを証している。尚生成された油脂組成に関して詳細な研究を行っているが椰子油に近いものと考察される。

6 結 語

以上の各編に於て実験せる結果に就て個々に要約を附したので茲には極めて總括的に結論を記し併せて若干の展望を試みんとする。

本研究に於ては草炭、桑条、稻藁、穀殻、綿実殻、バガス等の纖維質原料を稀薄硫酸にて加圧加熱下に新しく考察した分割的な Percolation 法によって糖化し、かくて生成せる糖化液の組成を明かにし、含有されている糖類を醸酵法によって酒精化すること並に酵母菌体化することとの技術的、経済的に可能であることを明確にした。これ等の研究に關聯して糖化液或は工場廃液中のペントースを酵母菌体化することの研究も行い、その工業的価値を認めた。

これ等の結果からこの研究を展望するに纖維質の糖化に当っては我国では外国に於けるが如く特定の場所に多量の原料を集めることは困難で小工場を各地に建設すると云う方面に進むべきであろう。又現在の工業事情により木材より寧ろ草炭、稻藁の如き纖維質原料を使用するが適當であり、硫酸を使用して分割的な糖化を加味せる Percolation 法を採用すべきであると考えらる。次に糖化液は工場廃液と共に酒精製造に利用すべきは勿論のこと、その他の有用な薬品の製造に研究を展開すべきである。他面菌体の製造に当って酵母製造も赤色酵母の使用或は接合その他の方法で改良せる菌種の使用により脂肪、蛋白質、ビタミン等の栄養素を合理的に生成せしめ、優秀な食料を製造して国民保健に貢献できるであろう。最後に糖化残渣の主成分たるグニンは純度高く反応性高いので有機化合物の原料となし得、これが活用は大きな研究問題である。

引 用 文 献

- Bracannot : Ann. Chim. Phys., **63** 348 (1919).
- Bergius : Ind. Eng. Chem., **29** 247 (1937).
- Scholler : "Scholler-Tornesch Process," Tech. Bur. of Percola, March 1 (1939).
- Harris, Hannan, Rogers : Ind. Eng. Chem., **38** 898 (1946).
- 著者 : 農化誌, **17** 655 (1941).
- 著者 : 京大化研報, **13** 177 (1944).
- 小林 : 農化誌, **21** 23 (1946).
- 市野 : 酿工誌, **26** 78 (1948).
- 著者 : 浪大農報, **1** 149 (1950).
- Horrocks : Nature, **164** 444 (1949).
- Fink, Lechner : Biochem. Z., **278** (1935).