

臺海文獻匯刊

名譽主編
主編

陳支平 林曉峰
蕭慶偉 鄧文金 施榆生

51



廈門大學出版社
XIAMEN UNIVERSITY PRESS

國家一級出版社
全國百佳圖書出版單位

臺海文獻匯刊

名譽主編 陳支平 林曉峰

主編 蕭慶偉 鄧文金 施榆生

策劃編輯單位

閩南師範大學閩南文化研究院

廈門大學兩岸關係和平發展協同創新中心

錄梅老子自題

六肚皮集



太岳詩草補遺

丁汝璽署

太岳詩草補遺

太岳詩草補遺

館

方

光緒

佳略

新聞出版改革發展項目

福建省社會科學規劃重大項目（項目編號2014Z001）成果



臺灣省糖業試驗所
研究彙報

第二號

中華民國三十六年十二月

REPORT
OF THE
TAIWAN SUGAR EXPERIMENT STATION

No. 2

December 1947

臺灣省糖業試驗所刊行

臺南臺南市

Published by

THE TAIWAN SUGAR EXPERIMENT STATION

TAINAN, TAIWAN, CHINA

臺灣省糖業試驗所研究彙報 第二號 目次

	頁
反丁烯二酸醱酵之研究 {白孝 漢洪 熙潮	1
製糖濾滓促進酒精醱酵作用之研究 {白趙 漢桂 熙潮	11
優良酵母之檢索 (第一報) 濃醪醱酵用酵母 {蘇林 共水 進發	18
亞硫酸鈣法蔗渣紙漿製造之研究 {胡周 德 頤慶	24
蔗渣可塑物試驗 (第一報) {胡溫 毓 頤凌	31
濾滓之利用研究 (第一報) 濾滓之組成 {岑蔡 卓明 卿朝	38
臺南氣候因子對甘蔗產量之影響 (一) 單一因子之考查 {孫周 逢耦 吉保	44
臺灣甘蔗開花之調查研究報告 {鄭趙 仲致 孚康	99
甘蔗嵌紋病傳播昆蟲之研究 (初報) 劉錫 彬	115

反丁烯二酸醱酵之研究

白漢熙 李洪潮

緒 論

反丁烯二酸 (Fumaric acid) 爲二羧基不飽和酸，由醱酵而得之有機酸中，具有不飽和鏈者，極爲少見。其用途亦將因此特性之存在，而益形增大。通常所知者，如用作油類之防氧化劑，酒類之防腐劑，及藉其脂以製造塑料 (Plastics) 等皆是。以化學方法可自蘋果酸製造，惟利用微類之醱酵作用，由澱粉、糖類等製造，實爲一經濟有利之方法。作者本此目的，擬以蔗糖、糖蜜、爲原料，先行分離菌種，再於實驗室中決定其產酸最適條件，而後採用旋轉鼓形醱酵法⁽¹⁾，以行小規模試驗，力求漸形擴大而達於工業化。

產反丁烯二酸之微類，大部屬於根霉屬 (*Rhizopus*)，惟黑微⁽²⁾、青微⁽³⁾，亦有能產此酸者。根霉之產反丁烯二酸者，每與其他酸類如乳酸、琥珀酸、蘋果酸、醋酸、及鎂酸等，同時產生。醱酵之過程方面，雖經 Ehrlich⁽⁴⁾、Takahashi⁽⁵⁾、Gottschalk⁽⁶⁾、Butkewitsch 與 Fedoroff⁽⁷⁾、Bernhauer 與 Thole⁽⁸⁾，以及最近坂口、朝井、棟方⁽⁹⁾等諸氏之研究，均未能以一切當之實驗，足以說明。大部均屬臆測，且主張不一，亦無從根據。惟吾人推想菌體內酵素複雜，於不同之條件下，其活動性亦異，整個之醱酵過程，勢必從事於酵素之分離，方足證實。

菌 種 之 分 離

培養基 蔗糖 5% (NH₄)₂SO₄ 0.2% K₂HPO₄ 0.05% MgSO₄·7H₂O 0.05%
Fe₂(SO₄)₃ 0.001% ZnSO₄·7H₂O 0.005% 蒸餾水

取花、葉、穀類、土壤等菌源於上述培養基之 Petri dish 固體平面培養基上，或直接置於 Petri dish 內之潤濕濾紙上，於 30°C 恒溫箱中培養之。待見根霉發生，乃鉤取單孢子囊，更經一度純化後，以鐘汗洋菜斜面保存之供用。

茲錄分離所獲菌種之來源，及其編號如表 1：

第 1 表 分離所獲菌種來源及菌之編號

菌 源	菌 之 編 號	菌 源	菌 之 編 號
甘 肅	1	大 麥	8
陳 糖 蜜	2	貴州白家甜酒藥	9
蒜 茄 皮	3	榕 樹 實	10
粉 莖 粉	4	香 蕉	11
飯 加 白 家 酒 藥	5	菜 樹	12
紅 豆	6	蛋 果	13
紫 麵	7	蛋 果	14

酸 酵 力 之 比 較

培养基 蔗糖果糖或糖蜜 10% (總還原糖) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.3% K_2HPO_4 0.05%
 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05% $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 0.001% 蒸餾水

試驗方法 置 50 c.c. 培养基於 250 c.c. 之三角瓶中，塞以棉栓，於高壓殺菌器中，115—120°C 40 分間殺菌。乃接入一白金耳經培養一週之鏈汁斜面培養之純種，而置於 30°C 恒溫箱內。培養三週後，取出分析。先將醱酵液沖淡至 200 c.c. 左右後而加熱。使沈澱於器底之結晶，或附着於菌絲上之結晶溶解，全部過濾後，再加入蒸餾水 50 c.c. 左右於殘渣，更經加壓過濾。務使全部反丁烯二酸或其鈣鹽溶解，注滿 250 c.c. 之量瓶刻度而止。然後分別採取若干 c.c. 以 Bertrand 法分析糖分，(以總轉化糖表示)。培养基中之糖量，大致均在 10% 左右。經減去餘糖後，即為被利用之糖量。至酸度之分析法，共分下列三種：(1) NaOH 法 直接以 $\text{N}/10$ NaOH 溶液滴定，(2) KMnO_4 法 加入草酸鉍溶液使成草酸鈣，乃以硫酸溶解，而以 $\text{N}/10$ KMnO_4 液滴定之，(3) Ba 鹽法 由 (2) 法求得 Ca^{++} 之總量後，加入適量硫酸酸化，而於液體浸出器中以醇浸出，造成 Ba 鹽後，溶解於 80% 酒精者為乳酸鹽，不溶解者為反丁烯二酸鹽。 (1), (2) 二法所得為總酸，以反丁烯二酸算出之。

1. 蔗糖醱酵

以蔗糖為培养基之炭源，而行比較試驗，各菌種生長良好。菌絲初呈白色，四五天後因孢子產生而漸成灰褐色，生長逐漸停頓，或因產酸而遏制其生長之故。用糖率普遍不高，醱酵九天後會作分析，產酸量與二十一天者相差甚微，惟後者用糖量較大，藉知生長雖近停頓，而仍能消耗糖分。培养基中含蔗糖 9.85%，鹽類同上；以 NaOH 法分析酸量，見表 2：

第 2 表 蔗糖醱酵試驗

菌 種	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
用 糖 %/100 c.c.	2.43	2.98	2.98	1.88	1.88	2.15	2.43	2.15	2.98	2.29	1.75	1.98	2.57	2.84
用糖率 %	24.6	30.2	30.2	19.0	19.0	21.8	24.6	21.8	30.2	23.2	17.7	20.1	26.0	28.8
產 酸 %/100 c.c.	0.20	0.19	0.14	0.15	0.13	0.14	0.13	0.15	0.13	0.15	0.14	0.16	0.13	0.18
產酸率 %	8.2	6.3	4.6	7.9	6.9	6.5	5.3	6.9	4.3	6.5	8.0	8.0	5.0	6.3

2. 糖蜜醱酵

以糖蜜為炭源之培养基，菌絲生長旺盛，潔白色，由周圍先長而漸至中間，菌蓋逐漸加厚，至七、八天後產生孢子，乃漸下沈，生長停頓。用糖率有達 80% 以上，遠較蔗糖醱酵為佳。惟產酸量極少增加。培养基中含糖量 10.25% 餘同 1. 見表 3 (所用糖蜜係民國 36 年度車路埕糖廠以炭酸法所得者，以下試驗均同)

反丁烯二酸發酵之研究

3

第3表 蔗糖發酵試驗

菌 種	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
用 糖 %/100c.c.	8.49	7.91	8.49	7.32	7.32	7.91	8.49	7.91	6.53	6.74	7.03	7.56	8.49	7.15
用糖率 %	82.8	77.1	82.8	71.4	71.4	77.1	82.8	77.1	63.7	65.7	68.3	73.7	82.8	69.7
產 酸 %/100c.c.	0.36	0.37	0.33	0.30	0.26	0.32	0.21	0.47	0.27	0.16	0.28	0.13	0.14	0.16
產酸率 %	4.2	4.6	3.8	4.0	3.5	4.0	2.4	5.9	4.1	2.3	3.9	1.7	1.6	2.2

3. 蔗糖發酵——添加中和劑

Ehrlich 氏⁽¹¹⁾認為添加中和劑於培養基中，其產酸量遠較不加者為大。此處以碳酸鈣為中和劑，而加入蔗糖培養基中，結果一般產酸率均顯著增加，而菌種 1、2、8 三種其用糖率亦劇增，產酸率達30%以上，頗有希望之菌種。生長時此三者雖已產生孢子，而又重新發芽，使菌蓋加厚。發酵二週後，產生大量二羧化炭氣，乃因酸與碳酸鈣中和之故。碳酸鈣量逐漸消失。8號菌種之瓶底，有美麗之針狀結晶產生，乃斷定其為反丁烯二酸鈣。其他菌種生長情形，與實驗1相似。培養基中蔗糖9.53%，鹽類同上。同時加入 CaCO_3 5%，酸量以 KMnO_4 法分析見表4

第4表 添加中和劑之蔗糖發酵試驗

菌 種	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
用 糖 %/100c.c.	5.27	7.41	2.13	0.86	0.73	1.23	1.10	8.47	1.95	1.95	0.73	0.89	1.23	0.73
用糖率 %	55.3	77.8	22.3	8.9	7.6	12.9	11.5	88.9	20.4	20.4	7.6	9.3	12.9	7.6
產 酸 %/100c.c.	1.88	2.23	0.35	0.02	0.04	0.12	0.08	2.89	0.19	0.39	0.27	0.11	0.13	0.24
產酸率 %	35.6	30.1	16.4	2.5	5.3	10.0	7.1	34.1	9.7	20.0	37.5	12.3	10.5	33.2

4. 果糖發酵——添加中和劑

以往報告，對於反丁烯二酸發酵所用之糖類，除 Wehmer 氏²外，大部均為葡萄糖。而蔗糖、糖蜜之成分包拮果糖及葡萄糖二者；大致供與後者均能利用，故吾人所分離之菌種，亦必須能發酵果糖，始可提高產量。此處以果糖為碳源，並加入中和劑，其結果良好，一般產酸率及用糖率均提高，顯示果糖之發酵較葡萄糖為佳，其原因尚待決定。惟此處尚包括一濃度因子在內，蓋培養基中含糖量少，即濃度低，對其發酵較為佳。培養基中含果糖5.97%，同時加入 CaCO_3 5%，餘同實驗3見表5

第 5 表 添加中和劑之果糖發酵試驗

菌 種	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
用 糖 $\frac{g}{100c.c.}$	4.99	4.99	2.46	1.57	1.39	1.28	2.07	5.48	1.34	2.36	2.26	3.14	0.97	1.87
用糖率 %	83.6	83.6	41.1	26.3	23.2	21.4	34.6	91.8	22.4	39.5	37.8	52.6	16.2	31.3
產 酸 $\frac{g}{100c.c.}$	2.15	2.05	0.46	0.57	0.50	0.61	0.45	1.75	0.25	0.50	0.40	0.49	0.36	0.41
產酸率 %	43.2	41.0	18.7	36.2	32.3	47.3	21.8	31.9	18.6	21.0	17.7	15.6	37.0	22.0

5. 糖蜜發酵——添加中和劑

加炭酸鈣於糖蜜培養基中，根據用糖率較不加者為差。產酸率雖稍增，然仍極低。1、2、8 三菌種產酸率亦低，此或因糖蜜中礦物質成分複雜，阻止其產酸之故。培養基中含糖量 9.39%，餘同 4 見表 6

第 6 表 添加中和劑之糖蜜發酵試驗

菌 種	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
用 糖 $\frac{g}{100c.c.}$	6.81	7.45	3.99	5.84	6.07	6.38	4.46	8.21	5.68	5.48	4.32	3.98	5.97	5.2
用糖率 %	72.5	79.3	42.5	62.3	64.6	67.4	47.5	87.5	60.4	58.4	46.0	42.3	63.6	55.4
產 酸 $\frac{g}{100c.c.}$	0.39	0.50	0.27	0.33	0.36	0.31	0.35	0.52	0.33	0.36	0.38	0.24	0.34	0.32
產酸率 %	5.7	6.7	6.9	5.7	5.9	4.8	7.9	6.2	5.8	6.6	8.7	6.0	5.6	6.1

上述五試驗所得結果以 1、2、8 三菌種較佳，經定性試驗後，僅 8 號能產反丁烯二酸。茲定名為糖試一號 (SES-1) 於糖汁培養基中，加入 2% CaCO_3 ，斜面保存供用。

形 態

糖試一號由大麥中分離而得，菌叢為灰褐色，培養於固體培養基上，發生菌絲狀匍伏菌絲，孢子囊柄 2—4 條發生，高約 1—3mm，成熟之孢子囊為黑色，圓形，其幅之大小約 20—80 μ 。中軸體為球形，老熟時孢子常自中軸脫落。孢子成球形，或卵圓形，有鈍角稜，呈黃棕色，表面有皺紋，直徑約 4—13 μ 。菌絲之近假根處異常膨大，呈棒狀。發育溫度以 32—34°C 間為佳，對於果糖，葡萄糖，蔗糖等均能發酵，而產生反丁烯二酸。

產 酸 種 類 之 決 定

根據除產反丁烯二酸外，無其他酸類同時產生。Takahashi 氏等⁽¹⁰⁾分離之 *Rh. japonicus* 及 *Rh. nodosus* 尚有乳酸，琥珀酸、醋酸及蘋果酸等存在。Bernhauer 及 Thole⁽⁹⁾ 認為 *Rh. nigricus* 除反丁烯二酸外，並有大量之蘋果酸及琥珀酸存在。本試驗之產酸量，先以 KMnO_4 法求得總酸

量後，再以 Ba 鹽法分析反丁烯二酸之量。二法之差約 2—3%，此種差異，顯示其他酸類之存在，然先後應用 Ba 鹽法，Bernhauer 與 Thole⁽⁶⁾ 法，及 Butkewitsch 與 Fedoroff⁽⁷⁾ 法檢查乙醚可溶物，均未發現有乳酸，蘋果酸，或琥珀酸之存在。故 2—3% 之差異，可能為不溶解於乙醚之有機酸，其結果見表 7：此處以七次平均數表之。培養基中蔗糖 10.27%，鹽類同上，CaCO₃ 同時加入，32°C 下培養 22 天後分析。

第 7 表 Ba 鹽法與 KMnO₄ 法之比較

用 糖 g/100c.c.	用 糖 率 (%)	鹽 酸 g/100c.c.	反丁烯二酸 g/100c.c.	差 異 (%)
8.54	83.1	3.41	3.32	2.4

最適產酸之條件

微生物醱酵每因環境之不同而影響其結果甚大；故對最適產酸條件之決定，極屬必要。試就其影響之因子而言之，可大別為二；即內在因子與外在因子二者。前者如以適當之物質馴養，每可增高其產量。反之，孢子衰老，則能力每因遞減，重新培養或可恢復其本能，亦有不明原因而逐漸損失其性能者。如 Wehmer 氏⁽²⁾ 所分離之 *Asp. fumarius* 1918 年產酸約 60—70%，至 1928 年產酸僅達 10% 以下，而不能因變更條件而復原。此種因子之操縱，每需較長之時間，茲暫從略。以下所作試驗，僅就其外在因子之影響，如溫度、濕度、氣源、PH 等，視其產酸情形，而求獲得最適條件以供應用。

1. 不同日期之產酸情形

醱酵之速度每因溫度而異，8% 左右糖液於 32°C 之恒溫箱中，十七天可醱酵完畢。大致初期主在繁殖，三、四天孢子成熟，產酸漸增。此時加入碳酸鈣，次日即可見菌蓋下二氧化炭氣泡聚集，(本試驗之碳酸鈣於接種三天後乾熱殺菌加入) 碳酸鈣量逐漸消失；十二天左右可見針狀結晶沈於瓶底，而後結晶逐漸加大。產酸情形詳見表 8，培養基中含蔗糖 8.17%，鹽類同上。菌蓋因附著結晶，以熱水溶解後，水洗烘乾秤量，以下試驗均同。

第 8 表 不同日期之產酸

日 期	用 糖 g/100c.c.	用 糖 率 (%)	反丁烯二酸 g/100c.c.	產 酸 率 (%)	菌 密 (g.)
五 天	1.71	21.0	0.55	32.3	0.1310
七 天	2.24	27.5	0.78	35.1	0.3201
十 一 天	4.83	59.1	1.95	40.3	0.3400
十 三 天	6.37	78.0	2.87	45.0	0.4350
十 五 天	7.25	89.7	3.41	47.0	0.4642
十 七 天	8.05	99.5	3.86	47.9	0.4710

2. PH之影響

微類之生長以微酸性至中性為佳，微鹼性較差。蔗糖之培養基 PH 為 6.4，經加入碳酸鈣後為微鹼性。故同時加入碳酸鈣之培養基，初時生長較慢，因之延長醱酵時間。如於培養 3—4 天後孢子成熟，生長逐漸停頓之時，再加入碳酸鈣，次日即開始醱酵如實驗 1；惟對碳酸鈣之加入方式頗值討論。(1) 乾熱殺菌 加入時易附着於液面或附着菌蓋上，而使醱酵不一致。(2) 乳液狀碳酸鈣 a. 以蒸餾水與碳酸鈣同時殺菌，然後加入，其結果醱酵日期與先加碳酸鈣者相似，或因沖淡培養基之濃度，影響細胞膜之滲透性。b. 以原培養基與碳酸鈣同時殺菌後，而加入已醱酵之培養基中，此法或較為佳，惟實驗室內應用不便，而於工業上可以採用。以下試驗有採用 a 法，亦有同時加入者。

3. 氮素之影響

(1) 蔗糖培養基——不同之氮素源

不同之氮素源對根微之產酸用糖影響至大，有機氮素遠較無機質為佳，蓋可促進其生長，而加速產酸；下列供試諸物質之含 N 總量相等。

培養基 蔗糖 9.72%，鹽類同上，同時加入 5% CaCO_3 ，32°C，21 天分析， KMnO_4 法。結果見表 9：

第 9 表 不同氮源之醱酵試驗

氮素源	用糖 g/100c.c.	用糖率 (%)	產酸 g/100c.c.	產酸率 (%)	菌蓋 (g.)
NH_4NO_3	6.62	68.0	2.91	44.0	0.3395
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	6.14	63.1	2.78	45.2	0.3676
Peptone	8.65	88.9	4.13	47.7	0.3940
$(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	5.54	56.9	2.32	41.8	0.1215

(2) 不同硫酸銨之用量

原用之培養基中 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 量為 0.3%，用量是否過多或不敷，由下表所得 0.3% 為最適之量。培養基及其他同 (1) 如表 10：

第 10 表 不同硫酸銨用量之醱酵試驗

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 用量 (%)	用糖 g/100c.c.	用糖率 (%)	產酸 g/100c.c.	產酸率 (%)	菌蓋 (g.)
0.2	5.42	55.7	2.19	40.4	0.3180
0.3	6.62	68.0	2.73	41.3	0.5015
0.4	5.78	59.4	2.13	36.9	0.4454
0.5	5.42	55.7	2.19	40.4	0.3155

(3)、糖蜜培養基——不同氮源及用量

在分離菌種之初，以糖蜜為炭源之培養基，菌絲生長良好。吾人已知糖蜜中原已含有氮素，再加入相當於 0.3% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 之氮，似屬過多。此處以原用氮量之 $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{3}$, $\frac{1}{6}$ 分別加入，同時氮源亦分三種，視有機氮素是否較佳，由表 11 所得，可綜合以下數點：(1) 用糖率大致氮量多者為大，惟不盡然；(2) 產酸率大致相似，對氮源並無影響；(3) 菌蓋之重量與氮量之多少，無明顯之關係。

培養基 含糖 12.91% 除 N 素外餘同 (1)

第 11 表 不同氮源及不同用量之糖蜜醱酵試驗

氮素源及用量	用 糖 g/100c.c.	用 糖 率 (%)	產 酸 g/100c.c.	產 酸 率 (%)	菌 蓋 (g.)
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.05g.	10.96	84.9	0.74	6.7	0.2720
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.10g.	10.47	81.1	0.58	5.6	0.3810
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.15g.	11.33	87.7	0.65	5.7	0.2760
NH_4NO_3 0.03025g.	9.82	76.0	0.64	6.5	0.4310
NH_4NO_3 0.06050g.	10.55	81.7	1.15	10.9	0.2305
NH_4NO_3 0.09075g.	11.52	89.2	0.62	5.4	0.3180
Peptone 0.06626g.	10.96	84.9	0.64	5.8	0.2650
Peptone 0.1325g.	10.62	82.2	0.68	6.4	0.2371
Peptone 0.1988g.	11.68	90.5	0.61	5.2	0.2292

4. 濃度之影響

(1) 蔗糖培養基

濃度不同，亦足影響產酸之多寡。此處於 32°C 下培養三十天，而後分析。濃度低於 10% 者用糖率可達 90% 以上，高於 10% 者則較差，蓋此時後者尚可繼續醱酵；惟以產酸率視之，以 8—16% 左右為佳；濃度低者不合於經濟價值。培養基中鹽類同上， CaCO_3 同時加入如表 12

第 12 表 不同濃度之蔗糖醱酵試驗

糖 量 g/100c.c.	用 糖 g/100c.c.	用 糖 率 (%)	產 酸 g/100c.c.	產 酸 率 (%)	菌 蓋 (g.)
1.95	1.83	93.8	0.40	21.7	0.8160
3.90	3.77	96.9	2.30	61.0	0.3346
5.85	5.60	95.9	3.30	59.0	0.4880
7.80	7.43	95.4	4.13	55.6	0.6910
9.75	8.81	90.7	4.14	47.0	0.6340
11.70	8.90	76.2	4.17	46.8	0.5780
13.65	8.95	65.7	4.18	46.7	0.5195
15.60	10.41	66.9	4.23	40.6	0.5800

(2) 糖蜜培養基

A. 加入鹽類之糖蜜培養基

加入所有鹽類， CaCO_3 同時加入， 32°C 下培養三十天後分析， (KMnO_4) 法。其結果亦以 8—10% 左右為佳見表 13：

第 13 表 不同濃度之糖蜜發酵試驗——加入鹽類

糖 量 g/100c.c.	用 糖 g/100c.c.	用 糖 率 (%)	蜜 酸 g/100c.c.	蜜 酸 率 (%)	菌 量 (g.)
3.19	2.95	92.5	0.20	6.7	0.5745
6.38	5.18	81.2	0.59	11.3	0.8190
7.98	7.14	89.4	1.09	15.2	1.0730
9.57	8.97	93.7	1.23	13.7	0.7715
11.17	7.58	67.8	0.86	11.4	0.9080
12.76	11.61	90.9	1.40	12.0	0.9380

B. 不加鹽類之糖蜜培養基

糖蜜中成分複雜，不加鹽類之發酵結果，用糖率低減，惟其主要因或在於氮量不敷之故；其生長不良，由菌量重量可見。其產酸率用糖率亦均以含糖量 8—10% 左右為佳，處理同 A. 見表 14：

第 14 表 不同濃度之糖蜜發酵試驗——不加鹽類

糖 量 g/100c.c.	用 糖 g/100c.c.	用 糖 率 (%)	蜜 酸 g/100c.c.	蜜 酸 率 (%)	菌 量 (g.)
4.14	1.86	35.1	0.36	19.3	0.0701
6.20	2.50	40.3	0.70	27.9	0.0990
8.27	3.61	43.6	1.04	28.8	0.1240
10.34	5.34	51.6	1.59	29.8	0.1801
12.41	5.78	46.5	1.62	28.1	0.1882
14.48	7.10	49.0	1.42	20.0	0.1963
16.54	8.32	50.2	1.66	19.9	0.2660
18.61	7.74	41.6	1.40	18.0	0.2031
20.68	7.63	36.8	1.39	18.2	0.2060

5. 溫度之影響

發育溫度以 32°C 左右為佳，產酸率則以 30°C 為佳；以其用糖量產酸量而言，則有隨溫度增高而增加之趨勢，見表 15：

培養基 蔗糖 9.3%， CaCO_3 以 a 法四天後加入，21 天後以 KMnO_4 法分析。

反丁烯二酸發酵之研究

9

第15表 不同溫度之發酵試驗

溫度 (°C)	用 糖 g/100c.c.	用 糖 率 (%)	產 酸 g/100c.c.	產 酸 率 (%)	菌 量 (g)
35	7.81	83.9	3.69	47.3	0.6065
32	7.41	79.6	3.51	47.3	0.6882
30	6.71	72.1	3.25	48.5	0.5498
27	6.53	70.0	3.05	46.7	0.5265
25	5.62	60.4	2.32	41.3	0.3866

菌 量 之 利 用

Butkewitsch 與 Fedoroff 二氏曾報告菌量可繼續利用，以使糖液變酸。茲將已經 10.91% 蔗糖培養基培養 19 天後之菌量取出，分別置入 (1) 糖液，(2) 有糖類之糖液中，視其產酸之情形；結果知二者之糖分，均可大部用完，惟產酸量不同，發酵時間不同，視表 16：

培養基：蔗糖 10.91% 加入 CaCO_3 5% 32°C 培養，W. KMnO_4 法分析。

第16表 菌 量 之 利 用

培 養 基	發 酵 時 間	用 糖 g/100c.c.	用 糖 率 (%)	產 酸 g/100c.c.	產 酸 率 (%)
(1)	19天	10.73	98.3	2.39	22.2
(2)	14天	10.85	99.4	3.46	31.9

結 論

1. 由大麥中分離出一種反丁烯二酸發酵之根菌，名之為糖試一號 (SES-1)，其產酸率可達消耗蔗糖量之 40—50%，菌量之重量約為消耗糖量之 10% 左右。惟對糖蜜之產酸極低，此或因糖蜜中之礦物成分複雜，而遏制其產酸之故。

2. 為提高產酸効力，中和劑之添加，為必需條件。
3. 有機氮源，有促進其生長，加速產酸，而縮短發酵時間等之效果。
4. 發酵液之溫度，不論蔗糖或糖蜜，其含糖量均以 8—10% 為宜。
5. 以產酸率而言，以 30°C 為佳，然其產酸總量，似有隨溫度提高而增加之趨勢。
6. 菌量有產酸之能力，惟產酸率僅及原來三分之二。

參 考 文 獻

1. H. T. Herrick, R. Hellboch and O. E. May : I. R. C. 27, 681 (1935)
2. C. Wehmer : Ber. 51, 1663 (1918)

3. H. Raistrick and P. Simonart : *Biochem. J.* **27**, 628 (1933).
4. F. Ehrlich und I. Bender : *Z. Physiol. Chem.* **170**, 118; **172**, 317 (1927).
5. T. Takahashi and T. Asai : *Proc. Imp. Acad. (Japan)* **3**, 86 (1927).
6. A. Gottschalk : *Z. Physiol. Chem.* **152**, 136 (1926); **172**, 314 (1927); **182**, 311 (1929).
7. W. L. Butkewitsch und M. W. Fedoroff : *Biochem. Z.* **206**, 440; **207**, 302 (1929); **219**, 87, 103 (1930).
8. K. Bernhauer und H. Thole, *Biochem. Z.* **287**, 167 (1936).
9. 坂口, 朝井, 棟方 : *日本農藝化學會誌* **17**, 19 (1941); **18**, 717, 793 (1942); **19**, 222 (1943); **20**, 79 (1944).
10. T. Takahashi, K. Sakaguchi and T. Asai : *Bull. Agr. Chem. Soc. (Japan)* **2**, 5 (1928); **3**, 59 (1927).
11. F. Ehrlich : *Ber.* **44**, 3737 (1911); **52**, 63 (1919).

Studies On Fumaric Acid Fermentation

Han-shie Bah Hung-chao Lee

1. A strain of *Rhizopus* named SES 1, newly isolated from barley was used in this present work.
2. The yields of acid amounted to 40-50 per cent of sucrose fermented, and the weight of fungus pellicles was about 10 per cent of sugar consumed.
3. Crude molasses was not as good a carbon source as sucrose. Its impurities stimulated fungal growth, while the yield of acid was low.
4. The use of CaCO_3 as neutralizing agent gave better yields of acid.
5. The addition of organic N source stimulated mycelial development, increased sugar consumption and rate of fermentation.
6. The optimum concentration of carbohydrate, either sucrose or molasses, was 8-10%.
7. The optimum temperature for its growth lied around 32°C , and that for production of acid, about 35°C .
8. The re-utilization of mature fungus pellicles gave poorer results.

製糖濾滓促進酒精醱酵作用之研究

白漢熙 趙桂潮

緒 言

鈴木等曾以製糖濾滓用作醱酵之副原料，謂於丙酮醱酵⁽¹⁾，及酒精醱酵⁽²⁾⁽³⁾，均有促進之功能。今則僅就促進酒精醱酵一端，作更進一步之研究，以期對促進作用之原因，有明澈之了解。

經多次試驗結果，已知其作用物質分為無機與有機二群；而以後者效能較強。

試驗方法

取糖蜜（除試驗 I 以外全為車路壠糖廠之炭酸法糖蜜）以水稀釋至 Brix 20° 左右，而後每 100 c.c. 添加硫酸錳 0.05 gm.，充分溶解以後，以 Bertrand 氏法測定其總糖分；而以每 50 c.c. 為一份，平均分裝至小發酵瓶中。然後加入試料，以常壓 100°C，每日一回，間歇殺菌三次後，種入一白金耳之 F 396 號酵母純菌，按上吸水劑管如圖。然後稱其重量，置 32°C 恒溫箱中，任其醱酵。以後每隔適當時間，稱其減少之重量，作為 CO₂ 發生量。再由原含糖量，換算為 CO₂ 發生率，以比較其醱酵之速率。

本文各試驗所用濾滓，均為本所 36 年度石灰法製糖之產品。經 100°C 烘乾、研碎、通過 40 mash 篩孔之細粉。



試驗結果

I. 原濾滓對石灰法及炭酸法糖蜜之促進作用

據鈴木等報告⁽³⁾，謂製糖濾滓，對炭酸法糖蜜之酒精醱酵，有顯著之促進作用；而對石灰法者，則雖有亦不明顯。今以車路壠糖廠 35—36 年度炭酸法糖蜜（培養基 I），及灣裡糖廠 34—35 年度石灰法糖蜜（培養基 I），引平行試驗之結果，知濾滓之促進作用對不同製糖方法之糖蜜，均有極顯著之效果；而仍以對炭酸法者為最有效。以表 1 表示其結果如下：

表 1 原濾滓對石灰法及炭酸法糖蜜之促進作用

處理編號	處理方法	CO ₂ 發 生 率 (%)		
		接菌 32 小時後	48 小時後	72 小時後
1	培養基(I) 加濾滓 0.5gm/50c.c.	32.60	85.72	95.64
2	僅用培養基(I)	7.03	43.25	85.43
3	培養基(II) 加濾滓 0.5gm/50c.c.	23.97	78.41	97.17
4	僅用培養基(II)	12.40	55.02	91.65

I. 濾滓之最大效用試驗

添加不等量之濾滓，於炭酸法糖蜜，以行發酵結果如表2。即濾滓之添加量，達酸酵液量之0.8—1.2%時，已顯示其最大效用。在接種後32小時內，能增加酸酵速率至300%以上，其後漸相接近，然至最終72小時，亦仍有顯著之功能。

表2 濾滓之最大效用

處理編號	濾滓添加量 gm/50c.c.	CO ₂ 發 生 率 (%)			
		接種後32小時後	48 小時 後	56 小時 後	72 小時 後
1	0.01	9.08	57.58	78.71	90.29
2	0.05	16.38	68.44	84.78	90.48
3	0.10	24.58	73.65	86.32	92.30
4	0.40	28.58	79.42	89.47	93.51
5	0.60	29.14	80.19	90.01	93.12
6	0.80	25.73	79.14	90.35	93.11
7	1.00	29.62	81.21	89.84	92.79
8	—	6.27	43.00	63.94	83.12

II. 濾滓灰分之促進功能

為求明瞭濾滓之促進酸酵作用，是否由於其間之無機成分。乃將濾滓燃燒成灰，以其灰分添加糖蜜中，行酸酵試驗。

濾滓之灰分含量為28.07%，結果如表3：

表3 濾滓灰分之促進作用

處理編號	添加物質 gm/50c.c.	CO ₂ 發 生 率 (%)			
		接種後32小時後	48 小時 後	56 小時 後	72 小時 後
1	濾滓灰分 0.028*	7.75	57.41	75.29	89.75
2	原 濾 滓 0.1	14.31	72.35	84.48	92.44
3	—	5.55	45.01	62.94	84.16

* 灰分0.028gm相當於原濾滓0.1gm.

由表3知灰分亦有顯著之促進作用，然不若原濾滓之有效。此表示濾滓促進作用之主體，或為有機質，或必須由有機質與無機質二者併合時，始有最大之功能。

IV. 濾滓灰分之最大效用試驗

添加不等量之濾滓灰分於炭酸法糖蜜中，測定其對酸酵促進之最大效用。結果知添加量為原量之0.2—0.24%時，已達登峰造極之效力。然與原濾滓之最大效用相較，相去尚遠。是則濾滓之無機成分，不能單獨顯示濾滓全部之功能明焉。