

第四卷 第五期

中華民國三十二年四月

黃海

發酵與菌學特輯

(第二十三號)

黃海化學工業研究社編行

文化印書館印

黃 海

第四卷 第五期 目錄

丙酮丁醇發酵試驗(一)

微菌的尋找與選擇.....	方心芳.....	103-106
合成液中鉀鹽與酵母之影響.....	新張藻.....	107-108
微菌造膠法.....	蕭永瀾節譯.....	109-110
酵母之無機物養料.....	方心芳.....	111-116

黃海雙月刊

發 酵 與 菌 學 特 輯

第二十三號

定 價

每 期 三 元
每 年 六 期 十 八 元

(每期外加掛號郵包費二元五角全年十五元)

編 行 者 黃海化學工業研究社

四 川 五 通 橋

印 刷 者 文 化 印 書 館

樂 山 老 霄 頂 三 清 宮

中 華 民 國 三 十 二 年 四 月

丙酮丁醇發酵試驗(一)

微菌的尋找與選擇

方心芳

(黃海化學工業研究社)

(一)丙酮丁醇菌

丙酮丁醇菌，是酪酸菌類，有悠久的歷史。1814年 Chevreul 知發酵液內可有酪酸的存在。1844年 Pelouze 及 Gélis 在製乳酸時，發見膠中生多量的酪酸。但是他們的理解錯誤了，雖開出處法，且印入課本，對於酪酸發酵無甚裨益。酪酸發酵的開山鼻祖，仍為巴斯德先生。

1861年巴斯德確認酪酸生成，由微生物之作用。這種生酪酸的微生物能行動，巴氏以為是動物，名 *Vibrio butyrique*。長桿形(2×2-15μ)，生長時不要氧氣。當時知微生物非氧不活，這不要氧氣的菌，使化學家的巴斯德大感興趣，深入研究，供獻不少。然酪酸菌，却待他人繼續了。

1865年 Tre'cul 在各種植物浸汁內，看見生酪酸的小生物，形狀不一，分桿棒，紡錘及蝌蚪形。Tre'cul 順序名為 *Amylobacter*、*Clostridium* 及 *Urocephalum*。後經 van Tighem 之研究，認為 Tre'cul 之三菌，乃一種細菌，與名 *Bacillus amylobacter*，且知其孢子能抗高溫。

Prazmovski 於 1877 至 1880 年研究土中酪酸菌，結果認為與巴氏的 *V. butyrique* 等菌為同一種。但他將 *Clostridium* 一字昇為屬名，叫他的二新種為 *Clostridium butyricum* 及 *Clostridium Polymixa*。

丁醇的發見，是 A. Fitz 研究數年(1876 至 1884)的成就。他試驗牛糞中的酪酸菌，其中一種能生丁醇，與巴斯德所見的細菌類似，但不發酵乳酸鈣，命名 *Bacillus butylicus*。1885年 Buchner 自草中分出一菌，也能生丁醇，他稱丁醇桿菌 (*Butyl-bazillus*)。

Hueppe 於 1884 年分出一酪酸菌，能在有空氣處行其分解作用。Gruber (1887)更分離得三個純種，都能生酪酸及丁醇，可是有一種為好氣菌。

Beycrinck 的工作，雖無新發見，然更確切闡明了酪酸菌的性質。他試出

所有酪酸菌都於細胞內生澱粉小粒(*granulose*)，用碘染為藍色，因此他創*Granulobacter* 一字，以當酪酸細菌之屬名，且立定義，以表其性。*Granulobacter* 為絕對或暫時的嫌氣發酵細菌。於完全無氧生長時，細胞內部分或完全充滿澱粉小粒，且呈紡錘形。稍有氧氣，即生活動短程，碘染黃色。內生孢子使其形似紡錘，於 95-100°C. 下數秒或數分鐘後始行死亡。生氫及 CO₂，但不生甲烷。*Granulobacter butylicum* 為 Gruber's *Bacillus amylobacter* I 之改稱，廣存在於五穀上，產生丁醇。*Granulobacter saccharobutyrium* 為真生酪酸之種云。

嗣後稱新種酪酸菌的更多。1937年，嫌氣菌專家 Weinberg, Nativelle 及 Prevot 對於酪酸菌，開出一單，照抄於下，以資參考。

V. butyrique Pasteur 1861

Amylobacter Trecul 1865

Amylobacter Nylander 1865

Bacillus amylobacter Van Tieghem 1877-1879

Bacterium navicula Reiske 及 Berthold 1879

Clostridium butylicum Prazmovski 1879-1880

Bacillus butylicus Fitz 1882

Butylbacillus Buchner 1885

Clostridium butyricum I II III Gruber 1887

Bacille amylozyme Perlix 1891

Bacillus butyricus Botkine 1892

Bacillus orihobutylicus Grimbert 1893

Granulobacter saccharobutyricus Beijerinck 1897

Granulobacter lactobutyricus Beijerinck 1897

Amylobacter butylicus Duclaux 1895

Bacillus saccharobutyricus van Klecki 1896

Granulobacter saccharobutyricum Emmerling 1896

Granulobacillus saccharobutyricus mobilis non liquefaciens Schottenfroh 及 Grassberzer 1900

Granulobacillus saccharobutyricus immabilis liquefaciens Schottenfroh 及 Grassberzer 1900

Clostridium Pasterianum Winogradsky 1902

Clostridium americanum Pringsheim 1906

- B. amylobacter* A. M. 及 Bredemann 1909
 Butyl organism of Mc Coy Fred Peterson 及 Hastings 1926
Clostridium butyricum iodophilum Svartz 1932
Clostridium Polyfermenticum Partanskz 及 Henry 1935
Clostridium Saccharo Philicum Partanskz 及 Henry 1935
Clostridium saccharopetum Partanskz 及 Henry 1935
Clostridium saccharopostulatum Partansky 及 Henry 1935
Clostridium saltagoformum Partansky 及 Henry 1935

這個簡單的名單，指出酪酸菌似歸好多屬內。其實不然，酪酸菌重要的性質一致；都能生紡錘體，碘染粒，活動，發酵糖類生最終產物及無蛋白質水解力與致病性。不惟一屬，且可與一種名。Weinberg 等說瑞典學者 Nanna Svartz 命名酪酸菌為 *Clostridium iodophilum butyricum*，顯示其三種特性最爲恰當。可惜違背植物命名之二字法，只得割愛一字，稱爲 *Clostridium butyricum* 云。

(二) 酪酸菌的尋找

在前節內，可以看出酪酸菌散布於自然界內，相當普遍。然酪酸菌在中國是否存在，是否一如歐洲，似尙無人證明，今特試之。

下表是我們試驗的結果，有酪酸菌者記×，○表示無此菌。

試料	有酪酸菌否	附註
紅薯	×	29年5月20日
馬鈴薯	×	”
小麥	×	”
草地土	×	”
高粱	×	”
馬路上土	○	29年5月30日
稻田土(深半尺)	×	”
稻田表土	×	”
腐草下土	×	”
青草下土	×	”
石上綠苔下土	×	”
少有機物田土	×	”
才風化石土	○	”
多有機物田土	×	”

池下泥	X	??
小麥根上土	X	??
石上青苔乾土	○	??
林下土	X	??
花園土	X	??
田土	X	29年5月9日
乾池底灘土	X	??
草下濕敗葉	X	??
高粱	X	??
小麥	X	??
玉蜀黍	X	29年5月6日
紅薯	X	??
花盆土	X	31年10月
小麥	X	??
蓖麻子	X	??
大豆	X	??
玉蜀黍	X	??
紅薯	X	??
田土	X	??
蠶豆	X	??
豌豆	X	??

由此可知，五穀上多有酪酸菌，含有機物多的田土，亦有此菌，無植物生長的沙土內，亦無酪酸菌。

(三) 丁醇丙酮菌的選擇

丙醇丁醇發酵工業內的細菌，須產醇量大，自不待言。而自然界內的丙醇丁醇菌的能力，猶不一致，勢須選擇。

在許多菌中，我們選出五種。這五種菌的產丙醇丁醇量，亦分高低。茲抄試驗記錄一個於下，以見一斑。

菌號	菌之來源	100cc. 玉蜀黍醪中生丙醇丁醇cc. 數
1	土壤	0.8
2	玉蜀黍	1.5
3	蓖麻子	1.0
4	小麥	1.0
5	大豆	1.6

(三一，十一，八。)

合成液中鉀鹽與酵母之影響

方心芳 張新葉

(一)

據蔡子定君分析川產紅糖含 K_2O 1.99%，糖蜜則含5.19%。釀酒時，以將紅糖糖蜜沖淡五倍論，紅糖醪約含 K_2O 0.4%，糖蜜者則為1%。改算為氯化鉀，則前者為0.6%，後者是1.6%。如此濃度之鉀與酵母無影響乎？酵母發酵醪中 KCl 之最適濃度為何數？

(二)

配一種不含鉀之基本溶液，於一定之容量內加入不等量之 KCl ，接酵母發酵，出 CO_2 多者，即為最適濃度。

基本液：

精糖	100 公分
硫酸鎂	1 公分
磷酸二鈉	1 公分
硫酸鎂	0.7 公分
麥芽汁	10 cc.
蒸溜水加至	1000 cc.

所用酵母為黃海116號，茲舉試驗三次之結果於下，以資比較。

KCl 之最適濃度

KCl含量 g/100 cc.	100 cc. 醪 出 CO_2 量 (公分)								
	1天	2	3	4	5	6	7	8	9
	A								
0	0.1	0.3	0.6	1.0	1.3	1.5	1.6	1.8	2.2
0.08	0.3	0.8	2.2	3.2	3.7	4.0	4.2	4.4	4.8
0.4	0.3	0.8	2.6	3.4	4.7	4.5	4.7	5.0	5.1
1.6	0.3	1.0	1.7	2.3	2.8	3.1	3.4	3.6	3.7
4.0	0.2	0.6	0.9	1.4	1.8	2.1	2.2	2.5	2.7
	B								

0	0.2	0.4	0.6	0.9	1.0	1.3	1.5	1.8	2.0
0.08	0.3	0.6	1.1	2.3	3.2	3.8	4.0	4.5	4.8
0.4	0.3	0.6	1.6	2.8	3.1	4.0	4.5	4.9	5.0
1.6	0.2	0.6	1.2	1.9	2.7	3.4	3.8	4.1	4.4
4.0	0.2	0.5	0.9	1.1	2.1	2.8	2.9	3.2	3.5
C									
0	—	0.3		1.6	2.1	2.5	2.6	2.9	3.1
0.08	—	0.3		2.8	3.6	4.2	4.5	5.0	5.2
0.4	—	0.4		2.5	3.2	3.8	4.2	4.5	4.8
0.6	—	0.4		2.0	2.6	2.9	3.5	3.7	4.0
4.0	—	0.3		1.7	2.1	2.3	2.6	2.8	3.0

(三)

前試驗指出合成液含 KCl 量 0.08~0.4 g/100 cc. 爲適，1.6 g/100 cc. 者已有毒性。是知紅糖膠中原有鉀量已多，而蜂蜜膠中者則大過量。但含百分之四氯化鉀尚能發酵，又所用精糖內有鉀雜質，故不如此鹽之瓶，均能發酵。

實際上蜂蜜膠中 KCl 可增至 8%，尚不顯特別毒害，將詳他文，此蓋因其他物質呈中和作用之故也。

微 菌 造 膠 法

蕭 永 瀾 節 譯

植物文獻內記述着許多關於微菌之爲食用及作成有用物品之參考資料，在歐洲一帶，栽培着許多菌，以資食用。這種適口，且有營養價值之菌體，引起許多學者之注意。從事研究結果，知其含有豐富之碳水化合物，脂肪，蛋白質，礦物質，以及芳香物品。

雖然過去已經利用了大部之高等菌類，但是由微，酵母及細菌所構成之菌體，無疑的更有價值。下等菌易於培養管理，應用起來特別有利。

此文之目的，在引起關心於應用菌學者，認識微菌菌體之價值，及其可能而且經濟的利用。此種菌體，概似植物膠，黏體，皮革或橡皮等，多稱爲膠質。

微 體 的 利 用

由種種菌所生成之薄皮，早被認為是工業上有價值的產品。多肉菌體，也可製成適用之片膜，先將其乾燥，研成細粉，於溶解劑內，打成很均勻之膠狀物，然後作成適當之膜。德國用 *Bacterium Xylinum* (*Acetobacter Xylinus*)，*Bacterium Xylinoides*，及 *Mucor Boidin*。

很早以前，就有人注意到用黏滑菌體，可能作成半透明羊皮紙似的紙張。試驗的先進，在造紙廠內試驗，屢得到結果。*Mucor*，*Penicillium*，*Oidium*，*Monilia* 等屬的菌類的菌體，多可作此類紙張。其中有某幾種，可以產生很充足之膠質，某幾種酵母狀菌，已經被用為作半透明紙。其所生成之膠狀物質，在初培養之前四星期中，易於造紙。因似橡膠並密結，易於處理。過老變黏，難於下手。一種優良的菌；似 *Oidium Lactis*，供以葡萄糖，甘油，甘露蜜糖，則可以產生大量之膠質。在試驗室中培養，以洋芋煎汁，四星期後，200 cc. 培養液，可得重約80至100克薄膜，此膜乃膠質，約含有百分九十的水份。此菌尚未被應用於工業，因其較一般之設備為大。

不同之培養基內生的膠質，有不易應用者。有的菌皮硬而且粗糙，可是由 *Oidium* 所生成之膠黏膜有不失為商業上之重要物產。

Escherichia Leporis，*Aerobacter aerogenes*，*Bacillus*，*Vulgatus*，*Oidium Lactis*，*Oidium pullulans*，*Monilia candida*，*Aspergillus fumigatus*，*Mucoracemosus*，*Penicillium guttulatum* 等菌的菌體，也有應用的可能，酵母雖不能造紙，可供食用。1930年，美國產壓榨酵母二萬三千萬磅，至1931年，產三萬三千五百萬磅。

許多低廉之原料，可資培養菌類，如亞硫酸鹽之廢液，糖蜜，蒸溜廢水，五穀的渣子，作澱粉之廢水，木屑，玉蜀黍汁等，此事業之有希望可斷言也。

茲將不同之培養基對膠生成之約量，列述於下：

(200 cc. 培養液，所生成乾菌體重)

培養基種類	生乾膠質量(公分)
洋芋煮汁	4.8
洋芋汁+乳糖10%	8.5
洋芋汁+蔗糖10%	9.5
洋芋汁+糊精10%	18.5
洋芋汁+麥芽糖10%	20.00
洋芋汁+酒精3%	23.8
澱粉廢水+甘油10%	24.00
洋芋汁+甘油10%	28.00

洋芋汁+轉化糖10%	32.5
洋芋汁+葡萄糖10%	36.00
洋芋汁+甘露糖10%	41.00

原著：J. R. Sanborn. (Industrial And engineering Chemistry)

P. 1189, 1936

酵母之無機物養料

方心芳

(一) 酵母灰的成分

研究酵母的無機物，不外二途：化驗酵母所含各無機物質的成分及測量各物對酵母生長的影響。我們若不知酵母所含成分，瞎磨着試驗，像 Raulin 研究黑麴菌營養似的，也能得到線索，以達目的，事倍功半耳。反過來說，也不能以分析細胞成分的結果，作為酵母營養料之額定的標準。不過化學家給與的生物成分，確予生物學家研究生物營養上一大南針。生物體內所有的物質，多是生物所必須的。所以在未提及酵母無機物營養料前，先知道酵母灰分的成分，是有益的。

分析酵母灰分的人不少，可是未得一致結果。事實上也難一致。蓋酵母成分受培養液，培養時間，培養溫度等等不同而改變，分析者所用酵母試材不同，即手續一致，結果亦難吻合。何況分析方法，彼此又參差呢。

第一表

乾酵母含灰%

分析者 酵母種類	Mitscherlich	Schlossberger	Hessenland	Bull Lintner	平均
上面發酵酵母	7.65	2.5	11.5	8.9	7.64
下面發酵酵母	7.51	3.5	10.1	8.07	7.30

第二表
酵母灰之成分%

	壓榨酵母	上面發酵酵母	下面發酵酵母	清酒酵母	平均數
K ₂ O	38.68	35.2	38.45	31.94	36.07
Na ₂ O	1.82	0.5	—	17.63	
CaO	1.99	4.5	2.85	少量	3.11
MgO	4.16	4.1	5.80	5.95	4.99
Fe ₂ O ₃	0.06	0.6	0.51	—	
P ₂ O ₅	51.09	54.7	48.19	44.47	49.11
SO ₃	0.57	—	0.62	0.37	
SiO ₂	1.60	—	1.26	—	
Cl	0.03	0.1	—	—	

以第一表及第二表之平均數，可計算乾燥酵母含各物質之百分率。普通1公分乾燥酵母等於3.7公分壓榨酵母，因此可得濕酵母之無機成分。

第三表
酵母含無機物之%

	K ₂ O	MgO	P ₂ O ₅	CaO
乾燥酵母	2.7	0.37	3.68	0.22
濕酵母	0.73	0.10	1.00	0.06

普通發酵一升醪，需酵母乾燥量2~7公分，其所需無機物重量，相當的大，所以釀酒廠內常發現因無機物缺乏以致發酵失常的毛病。

(二) 磷酸鹽

酵母灰中最多的是磷酸，乾燥酵母含 P₂O₅ 3.68%，可以想見磷酸在酵母生理上的重要性。

閱者在「酵母之組成」一文中，可以查出酵母核酸之每一 mononucleotide (磷酸—五炭糖—Guanine)，即有一磷酸分子。Lecithins 及 Cephalins 等磷脂類，也是磷化物。酒精發酵必須有的 Co-enzyme，是含磷酸二分子的東西。不論是得到熱能或合成體質，酵母都須分解糖類。而此糖類分解的中間產物，多是含磷物。所以生活時發酵或呼吸，都須有磷酸鹽的存在。

我們曾試驗磷酸鹽對於酵母之生理關係。配培養液 1200 cc.，內含硫酸銨 1.0 公分，硫酸鎂 0.6 公分，氯化鉀 1.2 公分，麥芽汁 10 cc. 及一六公司精白糖 10 公分。分裝 12 瓶，加不等量之磷酸二鈉後，用乳酸調節各瓶 pH 值均等於 4.5。發菌後接入 116 號酵母菌，使之發酵，每日測量，以測定所生 CO₂ 量。

先隨磷酸鹽重量增加而加多，但到一定點後，則反減少，由此可知(1)磷酸鹽為酵母生理上所必須，(2)磷酸鹽過量，生毒害作用。

第四表
磷酸鹽與酵母生長發酵之關係

瓶號	Na ₂ HPO ₄ g/100 cc.	CO ₂ 公分
甲一	0.01	2.78
甲二	0.01	2.80
乙一	0.05	3.25
乙二	0.05	3.35
丙一	0.08	3.55
丙二	0.08	3.57
丁一	0.10	2.77
丁二	0.10	2.72
戊一	0.30	4.08
戊二	0.30	4.00
己一	0.50	3.75
己二	0.50	3.70

一般發酒膠中，磷酸鹽的來源為水及釀造原料。比如內江糖蜜含 P₂O₅ 0.18% 沖淡四五倍作酒精發酵，並無缺短磷酸鹽之現象。若我們曾添加磷酸鹽試驗，CO₂ 既不多生，酵母細胞亦不見增加也。糖蜜如稀含磷酸鹽 (P₂O₅ 0.11%)，較少，釀造酒精，有加磷酸鹽之必要。有些大麥含磷化物少，釀造啤酒，發酵不旺。精糖糖蜜之含磷化物少者，亦有同一現象，均須添加磷酸鹽類。磷酸鹽與釀造之關係，不止於發酵之盛衰，出酒之多寡，與酒的香氣亦有影響。磷酸鹽充足時，酒香優美，已為大家所承認。可是磷鹽多量存在，其酵母生殖及發酵都生毒害。我們加2%的 KH₂PO₄ 於培養液內，發酵現象大為抑止。前試驗證明0.5% 已生毒害矣。據 Elion 試驗，磷酸鹽之最適量，因酵母而異云。

培養酵母所用的磷酸鹽，以一鹽基之鈉，鉀、鈣、鈣為主，因其溶液為酸性，適於酵母生長及乙醇發酵也。

(三) 鉀 鹽

Koszowicz 培養 *Saccharomyces ellipsoideus* I 於砂糖及無機鹽類液中，試驗氯化鉀的結果，知1.2% 的 KCl，酵母繁殖最好，12% 顯毒性，14% 以上不生長。可是酵母習慣後，能抵抗更濃的鉀鹽液。鉀鹽於發酵力亦有影響，氯化鉀1%，酸基磷酸鉀1.82%，有促進發酵作用，然前者增到3%，後者改為

5.16%，則發酵減弱。可是我們的試驗稍異於是。

我們曾用精白糖100公分，硫酸銨1公分，磷酸鈉1公分，硫酸鎂0.7公分，麥芽液10 cc.，加蒸溜水裝成1,000 cc. 培養液。分裝十瓶，分為五組，各組加不同量的氯化鉀。用116號酵母發酵結果，以含KCl 0.08 g/100 cc. 者為佳，0.4%者次之，100 cc. 膠含4公分氯化鉀者，發酵力減弱百分之四十。

第五表 氯化鉀與發酵

100 cc. 膠中 KCl 公分數	0	0.08	0.4	1.6	4.0
CO ₂	3.6	5.4	5.0	4.1	3.1

上表之不加KCl者，發酵不甚惡劣的原因，是我們所用一六公司之精白糖中，含有微量的鉀鹽，並非酵母於無鉀鹽液內，能以生長。

由上試驗，可以證明，酵母之氯化鉀最適量，相當微小，而氯化鉀之毒害則甚大。此點對於用糖蜜等含鉀鹽多的原料釀酒者，關係不小，極須注意。但糖蜜中的其他物質，似有中和鉀鹽之毒性。蓋糖蜜中有鉀1.31%，20公分沖淡至100 cc.，則鉀之濃度為0.862 g/100 cc.。加鼓汁作氮質食料，用116號酵母，發酵最佳。待發酵完了，蒸去酒精，加20公分糖蜜於殘液中，添水成100 cc.，是此膠含鉀為1.724 g/100 cc. 矣。加酵母發酵，速率如前，照此法試驗直到第四次，發酵始稍衰弱，詳見下表。

第六表 糖蜜發酵與鉀鹽

瓶號	100cc 膠含糖蜜公分	膠中鉀量 g/100cc.	發酵前膠濃度Be	發酵後膠濃度Be	100cc. 膠生CO ₂ 公分
1	20	0.862	10.0	4.5	6.40
2	40	1.724	13.0	7.0	6.52
3	60	2.586	15.5	10.0	6.50
4	80	3.448	17.5	13.0	6.25
5	100	4.310	20.0	15.5	5.91

上表第5號瓶中之鉀，改為氯化鉀，計8.1 g/100 cc.，而其發酵力之減退只8%耳。與前一試驗比較，鉀鹽之毒性，因膠而異也明矣。

酵母之利用鉀，不限於無機鹽類，有機酸鉀鹽亦同樣俱營養價值。

過濃的鉀鹽液既有妨止酵母生殖及發酵，且於呼吸結構以影響，蓋酵母形成醱，亦因鉀過多而遲緩也。

(四) 鎂鹽與鈣鹽

鎂鹽為酵母生活所必須之物，認識於巴斯德，確定於Mayer。可是鎂的應用，至最近才揭破。所以1936年 Harden 還說，幾全不知道鎂在酵母生理

上的職務。

Fulmer (1936 及 1938) 等試出硫酸鎂有促進酵母生長素的效能。氯化鎂，硝酸鎂，無作用，但二者與硫酸銨同用，則呈現效能。不過硫酸鎂之促進作用，依酵母菌而異，Fulmer 因之分解酵母菌為三羣如下：

第一羣 $MgSO_4 + Bios II$ 無促進作用者

第二羣 $MgSO_4 + Bios I$ 及 II 亦無促進作用者

第三羣 $\left. \begin{array}{l} MgSO_4 + Bios II \\ MgSO_4 + Bios I \text{ 及 } II \end{array} \right\}$ 有促進作用者

我們知道糖分解是酵母生理上最要之反應，而糖分解必須經過磷酸酯之階段，磷酸酯生成分解的助酵素 Adenosine Phosphates 之賦活，惟鎂化合物具此技能。故酒精發酵，必須有鎂鹽存在。

硫酸鎂的最適量，我們曾加試驗，用硫酸銨：磷酸一鉀各一公分，自製無生長素冰糖 75 公分，加蒸溜水成 1000 cc.，作為培養基，分裝十瓶，再加不等量之結晶硫酸鎂，用 116 號酵母發酵結果，以 0.5 g/100 cc. 者為優，過猶不及，均示劣下。

第六表 硫酸鎂之適量

瓶號	硫酸鎂量(g/100cc.)	CO ₂ (公分)
甲	1.0	3.5
乙	0.5	4.2
丙	0.1	4.1
丁	0.05	3.9
戊	0.0	1.2

鈣鹽存在酵母灰中，但一般的合成培養液，多無鈣化合物，這說明酵母在無鈣中可以生長。研究酵母無機物有名的 Mayer 亦未將鈣列入必需品中。誠然，酵母在無鈣液中能生長，但不能發揮其最大力量。

歐洲啤酒廠用的酵母，多半購自廠外，繼續使用數次（最多十次）後，必須另換新購入之酵母。否則酒漿不清，沉渣難固。問到原因，多數自然。但酵母灰之成分，似可與吾人以啓示，見第七表。

第七表 酵母灰中鈣量之變動

酵母	乾酵母 含灰量	灰 成 分									
		K ₂ O	Na ₂ O	CaO	MgO	Fe ₂ O ₃	CuO	P ₂ O ₅	SO ₂	SiO ₂	Cl
德國某廠新 售酵母	9.71	32.66	0.59	4.48	4.94	0.05	-	55.75	痕跡	0.51	0.11
啤酒廠內用 七次後	8.94	35.22	-	0.54	5.23	0.45	-	56.75	,,	1.22	痕跡
純種培養者	7.56	34.92	-	0.83	5.25	0.29	0.64	56.86	,,	0.80	,,
酵母乙 在加石膏之 麥芽中用一 次後	6.82	31.76	痕跡	3.68	5.38	0.15	0.27	57.67	,,	0.62	,,
不加石膏麥 芽汁中用二 次後	5.01	29.06	0.14	2.42	5.70	1.21	0.38	60.30	,,	1.21	,,

第七表指出乾酵母灰分及灰中之氧化鈣變動最大，新酵母較用過七次者之灰中氧化鈣量，竟大八倍。酵母之變質，非因鈣過少乎？實際上發酵工廠，常因膠含鈣少而致發酵衰弱。酵母在缺鈣膠中，變質特快，亦為智雋的廠家所認識。所以含石灰少的膠水，須加以改正。C.G. Matthews 曾說，一升含 2 公分硫酸鈣的水，製成的膠，發酵旺盛而堅強，保持酵母之特性，能達滿意的結果。

Kossowicz 試驗，鈣確能增加酵母繁殖力：不加鈣的合成液 100 cc. 生成細胞 2.26 萬萬個，而加 0.01% 的氯化鈣者，則生成 3.20 萬萬個，是 0.01 公分的氯化鈣，增加了一萬萬的細胞！

(五) 硫酸鹽

硫為生物所必需，乃確定的事實。因為有幾種硫化物是生物體中不可或缺的成分。可是生物體中的硫，沒有與氧結合的。假使某種生物無還原氧化硫的技能，則該種生物即不能以硫化合物充硫之來源。比如動物，既不能利用硫酸鹽，即 Taurin (NH₂-CH₂-CH₂-SO₂-SO₂H) 一類的東西，也不能替代 Cystin。酵母反是，他能還原氧化硫，造成硫氫化合物，所以可以用硫酸鹽培養酵母。

酵母還原硫酸鹽生 SO₂ 之發見甚早，Pfeifer 曾測驗啤酒發酵所生 SO₂ 之重量，茲抄錄於下，以見一斑：

第八表 膠中 SO₂ 之產生
(一公升膠生 SO₂ 之 mg.)

	Lager 啤酒	Draught 啤酒
濾清麥芽汁	痕跡	痕跡
開始發酵之醪	11.1	7.6
初發酵後	11.7	8.8
貯藏一月後	12.5	7.7
出售啤酒		9.6

其他的酒類，如水果酒等，發酵時亦生 SO_2 。然酵母的還原力，尚不止於此，能更進一步，生出 SH_2 來；蒸溜酒時，聞到硫化氫的氣味，不是沒有的事。硫化氫的來源，可由氧化硫還原而成，然酵母也能使硫黃與氫化合，生 SH_2 。

酵母之所以必需硫黃者，因其體質中有硫化合物。Cystine 是組成蛋白質不可或缺的氨基酸，他分子中就含有硫。發現很早 (1853) 且在生理上極重要的 Glutathione (Philo thion)，是 Cysteine 與別二種氨基酸的化合物。酵母中還找到一種硫黃糖 (methyl thiopentose)，組織與 Rhamnose 相近，但尚不知其作用。Vitamine B₁，也含有硫，酵母之善造此物，為大家所公認。

硫酸鹽是酵母必需的營養料之一，雖無可疑，但一般研究室內多得到無硫時酵母能生長的結果。這也無怪，因普通的糖中，含有相當量的硫化合物。在無硫化合物的培養基中，添加硫化氫，Cystine，Cysteine 等都促進酵母的生長。無機物中，酵母之最易消化的為硫黃。

(六) 其他的無機物

除以上各物外。還有不少無機物對酵母生理有大的影響。Bertrand 及 Weber (1936) 加一種 Hormone (Folliculine) 於 *Rhodotorula glutinis* 培養液中，該酵母產量增加 12-16%，若再加些微鋅鹽（一升內加 1 mgm.），培養 53 小時，生產率增加 100~179%。另一試驗，培養 67 小時，則產量增為 250%。若增加鋅鹽，增量 10% 耳。由此更知，鋅鹽也有促進廣意的酵母生長素之力。

鐵鹽也為酵母所必需，製造酵母膠中加鐵，為應有之事。蓋 Kossowicz 證明鐵與酵母繁殖有大關係也：

第九表 鐵與酵母增殖

	100 cc. 醪三日生酵母細胞數
不加鐵者	100 × 10 ⁹
加 FeSO_4 0.001 %	320 × 10 ⁹
加 FeSO_4 0.005 %	340 × 10 ⁹
加 FeCl_2 0.00106 %	360 × 10 ⁹
加 FeCl_2 0.0053 %	300 × 10 ⁹

酵母體中含鐵化合物有 Cytochrome, Catalase 及 Peroxydase 等。

黃海發酵與菌學

第二卷第一期

糖酸發酵之研究(第七報告)	方心芳 李大德	1-4
丹寧液濃度與發酵面積	趙習恒	5-9
甘蔗糖蜜製造甘油法	郭質良	10-20
纖維質廢物發酵利用法	魏文德	21-25
陝西某酒精廠調查報告		

第二卷第二期

煤中之細菌問題	高尙蔭	26-29
徽酵素清澄葡萄酒試驗	吳香魁	30-32
麥粉中之一種雜菌	謝光遠	33-34
酵母菌孢子之形成發芽及其重要性	方心芳	35-62

第二卷第三期

焦磷酸之製造	郭浩清	63-70
糖酸發酵之研究(第八報告)	方心芳 李大德	71-72
發酵酸中產酸酵母之防止	韓士沂譯	73-82
酒精工業之趨勢	李大德 溫天時	83-86
五通橋酒廠之調查		

第二卷第四期

糖酸發酵之研究(第九報告) 固體發酵試驗	方心芳	87-88
糖酸之製造	吳冰顏	89-94
酒精發酵試驗	方心芳 淡家麟	95-98
檸檬酸之固體發酵	曹菊逸譯	99-105

第二卷第五期

糖酸發酵之研究(第十報告)	魏文德	106-110
五倍子丹寧之浸出	吳冰顏	111-116
糖酸之製造(續)	方心芳 張學旦	117-122
酒精試驗	高尙蔭	123-126
瓊脂爲細菌培養基之故事	方心芳	127-130
菌檢索表		

第二卷第六期

紅糖釀酒試驗	方心芳 蕭永瀾	131-134
糖酸之製造(續)	吳冰顏	135-144
酒精釀酒法	吳香魁	145-146
酒精蒸溜之理論與計算	謝光遠	147-156
遠爲燒酒參觀記	溫天時	157-158
五通橋酒廠上的兩種徽菌	方心芳	159-170
M. mucedo 及 P. sphaerosporus		

黃海發酵與菌學

第三卷第一期

甘蔗各部分內之Bios與酒精發酵之影響	方心芳	1-6
植酸之製造(續)	吳冰顏	7-20
尿與硫酸銨對於酵母菌之營養價值	方心芳 溫天時	21-24
酒精蒸溜之理論與計算(續)	謝光遠	25-32

第三卷第二期

樂山燒酒釀法之調查	謝光遠	韓士沂 溫天時	33-38
發酵尿水提鉀試驗		劉福遠	39-48
甘蔗梢皮內之Bios		方心芳	46-52
Bios在釀酒工業內之重要性		J. De lerck	53-56
根瘤菌能否在培養基上固定大氣中氮素		宋秉南	57-62
製革業與發酵之攸關工程		劉和清	63-66

第三卷第三期

內江糖密中缺之酵母養料	方心芳	67-74
四川豆瓣醬改良法	吳香魁	75-78
漏水釀酒之改良	溫天時	79-80
青神酒藥之分離	蕭永瀾	81-84
葡萄發酵	劉福遠	85-100
梨頭黴(Absidia)	方心芳	101-104

第三卷第四期

糖蜜及紅糖膠中加糖麴試驗	方心芳 淡家麟	105-112
植酸發酵(續上期)	劉福遠	113-128
青神酒藥製造試驗報告	蕭永瀾	129-134
毛黴檢索表	方心芳	135-138

第三卷第五期

小麥及小麥芽內之酵母生長素試驗	方心芳	139-142
四川酒藥中酵母之分離與試驗	高盤第	143-148
四川可鼓製造調查	張 斌	146-110
自酒精廠蒸溜廢液中收回鉀鹽提議	劉嘉樹	151-152
酵母之氮質養料	方心芳	153-164

第三卷第六期

幾種川產微菌之鑑定	方心芳	165-170
五通橋發麵酵母之分離	高芳烈	171-176
幾種酒精發酵試驗	鄧明駿	177-180
甘蔗汁製造酒精之初步試驗	晏壽原 溫天時	181-182
發酵為化學工業中產生有機酸之一因素	吳冰顏	183-186
瓊脂之性質製造收回與應用	方心芳	187-190