

4.2.11〔題目〕黒カビによる糖化酵素の生産

(第1報)

川原, 松久保, 松田, 末野, 若松

(目的)

でんぷん糖化剤としての酵素生産を目的として黒かびを用いた液内培養の方式において, その生産条件並びに生成酵素の性質を, でんぷんの最終加水分解能の点から検討を加えた。

(概要並びに成果)

1 使用菌株の問題

多数の黒かびについて高力価の生産を目標とした場合, クエン酸生産用黒麹菌は通常培養し1ml当50u (福本氏等の測定法) 以上の力価に達する。然し乍らその酵素組成はでんぷんの加水分解限度の点から必ずしも適当ではない。

この株から得られる多くの変異株を C/N 比の高い培地でスクリーニングした結果, 一般に生酸能の強いグループに属する菌株に最終糖化率(D/T)のすぐれたものが多いことを認めた。

2 培地組成及び培養条件

中性培地(炭酸カルシウム添加), 生酸性培地(C/N比の高い培地)では, 前者は見掛けの力価は高いがD/T(直糖/全糖)95以上に達することは難しい。即ち糖化終了時の糖組成にイソマルトース(IM)が著量に認められ, トランスグルコシダーゼ(TG)の蓄積が顕著である。

一方, 後者の場合アミラーゼ力価(SP)は弱いが酵素組成はTGの副成が少く, でんぷんの最終加水分解限度が明らかに高くでんぷん糖化用として適する。

原料N源としては藪が最適で米糠は液化力(DP)の高いプロスは得られるが, D/Tの伸びに欠ける。藪濃度は約5%までは, SP, DP共にその濃度に大体比例する。C源としては, でんぷんが必要で之を糖で代用すればD/Tの限界が少々低下する。(酵素組成が変る)又米, 切干芋は代用されるが濃厚仕込に難点がある。使用適値は, 2~4%で一般にC濃度は高い場合D/Tの伸びが良い。

更に無機N源としてNaNO₂の添加は力価の伸びに若干は有効であるが, 酵素組成には顕著な変化は認め難い。NH₄NO₃, (NH₄)₂SO₄等は良くない。その他磷酸塩, (KH₂PO₄, K₂HPO₄) 金属塩(Fe, Mn, Zn, Cu)の添加は殆んど認むべき影響はない。

初発PHは4.6~4.8が適当で, 低PHで始発すれば菌体の増殖が遅れる。又そのために酵素組成に変化は認められない。カルシウム塩の影響は前述の通りである。

胞子接種による培養で力価の蓄積は4~5日で, 前培養すれば通常4日(ジャーファーマンター)で最高に達する。消泡剤としてはシリコーンが良いが, 植物性油脂では, なたね半精製品又は大豆油が使用に堪へる。

3 最終糖化率を高める問題

最終到達D/Tに影響する因子は明らかにTGであつて, 黒かびの場合SP/DPの値は直接D/Tとは関係はない様で, 通常この値は6~10の範囲であれば, D/T96内外には到達する。

TGの除去については酸処理(PH1.8, 40°C 3時間)は有効で, 2u/g starchの使用でD/T98に達し明らかにIMの生成が阻止される。

然し乍ら力価SPは約50%又DPは痕跡程度迄失活が起る。

次に, 培養途中のPH調節の効果は一応前記の酸処理と全様な傾向は認められるが, 菌の耐酸性(増殖とアミラーゼ分泌の両面からの)の面から特に効果はうたえない。

然るに前記の如く, 藪とでんぷんを主体とする生酸性培地で, 最終PH1.8以下を示す菌株ではTGの生成が殆んど認められず, SP20以上に達すると共にD/T97以上の能力を有するプロスが得られる。之がこの菌株固有の能力か, (DP値には著明な変化はない)或は強酸性によるTGの失活によるか, 又はその分泌機構の1部阻害によるかは不明であるが, この生産様式は工業的には有利な手段となるであろう。

次に培養濾液に混在するTGを直接, 吸着除去する方法として, 各種の吸着剤について検討した結果, 天然産珪藻土による処理が明らかに選択的な吸着効果を示すことを認めた。

その効果が天然産珪藻土に随伴する不定形粘土によることを確認し, 特にアロフェン, ハロイサイト, ベントナイト系の粘土に強く, カオリナイト, セリサイト系のものでは少々劣ることを明らかにした。

処理条件としては培養濾液に対して5%内外の使用, PH調節の必要なく, 攪拌濾過の操作によつて目的を達することを明らかにした。

以上の結果, 現在迄に培養濾液の使用量を35%でんぷん液に対し15%使用し70~90時間でD/T97以上に糖化する結果が得られた。

4.2.12〔題目〕防腐剤を使用した生澱粉粕の

貯蔵 (予報)

松久保好太朗, 川原 一

(目的)

生澱粉粕は貯蔵中に微生物の作用を受け, その含有す

る澱粉量が消耗されると共に、クエン酸酐を阻害する物質が生産されるので特に気温の高い時期まで貯蔵する事はクエン酸原料として好ましくない事は既に報告したが、品質を著しく低下させない限り出来るだけ長期間生の状態で貯蔵し、使用する事が経済的には望ましいので工業的に使用出来る見込みのある数種の防腐剤についてその効果をしらべた。

(概要)

小型甘しよ磨砕機を用いて生甘しよを破砕後、澱粉を分離し、粕は80メッシュのふるい上で澱粉乳の殆んど認められなくなる迄水洗を繰返した後、搾り袋を用いて脱水、試料を調製した。

脱水粕10g (水分71.0%, 無水物2.9g) を100mlの三角フラスコにとり、所定濃度の防腐剤溶液50mlを加え蒸発を防ぐためビニールフィルムで蓋をして30°Cに貯蔵した。

表 各種防腐剤による生澱粉粕貯蔵試験

	防腐剤 PPM 濃 度	ガス発生状態		30日目 乾物量 減少率
		4日目	7日目	
対 照		+++	+++	51.7
JIS 第 1 種	1	++	++	51.7
	5	+	++	51.7
	100	+	-	20.7
JIS 第 4 種	1	++	++	51.7
	5	++	-	44.8
	100	-	-	34.5
重クロム酸カリ	1	++	++	48.2
	5	++	+	34.5
	100	-	-	34.5
DEXCO - SW	100	+++	++	48.2
	500	+++	++	34.5
パーマケム - FC	100	++	++	31.0
	500	++	++	31.0
パーマケム SL-300	100	-	+	41.3
	500	-	-	24.1
パーマケム STASIDE	100	++	+	31.0
	500	-	+	31.0

貯蔵：30°C 1ヶ月

各試料の外観は大部分のものは防腐剤の濃度とは全く無関係にその表面が赤青黒等に変色して居り、糸状菌々、酵母膜等が認められたが、対照区では表面にはこの様な変化を認めず只内部に気泡を生じた。これは既に報告した様に粕中に生産蓄積される揮発酸類特に酪酸による防黴作用に基づくものであるか、又この実験に使用した薬剤が時間の経過と共に効力を減じたものか不明であるが種々の薬剤の併用はより効果的であろうと思われる。クエン酸酐に及ぼす影響に就いての問題と共に更に検討を加えたい。

表の結果及びその外観から判断してパーマケムSL-300 500PPMが最も効果があり、粕の状態も菌叢等が認められず、色も新鮮物と殆んど変らない。その他、JIS第4種 5PPM、重クロム酸カリ 5PPM、パーマケムFC 500PPM及びパーマケムSTASIDE 100PPM等に比較的效果が認められた。