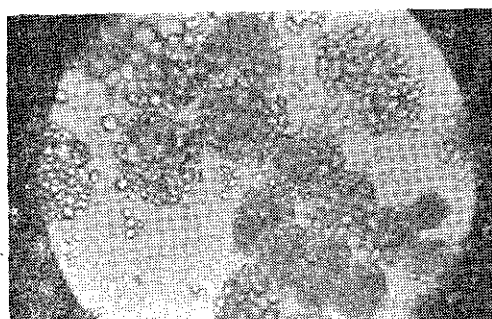
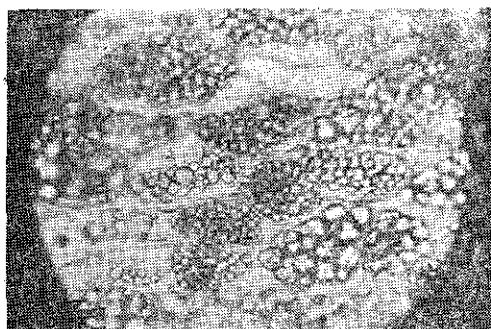




アルコール区 20 時間



硫 安 区 0 時間



硫 安 区 20 時間

あとがき

Cl. acetobutylicum S-1 の有する酵素組成について、エタノールによる沈澱、および硫安塩析によって粗酵素標品を得た。これを使ってペクチン質分解酵素およびセルラーゼ系酵素

について検討した結果次のことが明らかになった。

- 1 ペクチンおよびペクチン酸に対する粘度低下率は一般に弱く特に後者に対する作用力は微弱であった。また Exo- 型の酵素作用も存在し、ペクチンエステラーゼ力は僅かであるがその存在が認められた。
- 2 マセレーション力は認められたが果汁に対する清澄作用は認められなかった。
- 3 濾紙に対する作用力、CMCase、ガラクトマンナーゼ、キシラナーゼの存在が明らかとなった。
- 4 甘藷切片に対してはいずれも作用力を有しでん粉の遊離を顕微鏡写真によって認めた。

文 献

- 1) 浜崎幸男, 松久保好太郎, 川原一, 昭和39年10月, 日農化西日本支部大会発表(宮崎)
- 2) 本江元吉, 長田健: 農化, 32, 454 (1958)
- 3) 梶 明: 農化, 27, 699 (1953)
- 4) C.W. Nagel and R.H. Vaughn, Arch. Bioch. Biophys. 93, 344 (1961)
- 5) Seegmiller C.G. and Jansen, E. F.; J. Biol. chem. 195, 327 (1952)
- 6) Akira Kaji; Bull. Agr. chem. Soc. Japan, 23, 131 (1959)
- 7) Akira Kaji; ibid, 20, 8 (1956)
- 8) 真部正敏, 梶 明, 樽谷隆之: 食品工誌, 13269 (1966)
- 9) 紫田有康, 長山久美子, 富金原孝: 昭和41年日農化大会講演要旨集 P88
- 10) 丹羽富造, 西沢一俊: 醸工協誌, 23, 485 (1965)
- 11) 小川喜八郎, 外山信男: 醸工, 43, 661 (1965)

4. 2. 8 微生物の生産する酵素によるでんぷん製造(第4報) 2・3の黒カビの生産するペクチナーゼ系酵素および セルラーゼ系酵素について

浜 崎 幸 男

まえがき

筆者は前報において甘藷精練菌 Cl. acetobutylicum S-1 の産生する酵素についてその組成を調べ明らかにした。細菌以外の微生物

によっても生いもから直接でんぷんを遊離せしめるものが見出されている。例えば外山等の Trichoderma 属および Asp. niger 製剤等がある。Asp. niger 製剤にはアミラーゼが含まれ

ていて生でん粉を分解するので、でんぷん製造には都合が悪い⁽¹⁾。本実験においては3種の黒カビを実験材料に選び生いもに作用させながらその酵素組成を調べた。

実験の方法

I 使用菌株

使用した菌株は次の3種であった。

- 1 *Aspergillus usamii* R-0635
- 2 " saitoi IFO-6670
- 3 " niger IFO-5374

II 培養および酵素液の調整

数：粗がら=7:3の原料100gに水60mlを加え殺菌しそれぞれの菌を接種し、30°で約3日培養した。出麹後水600mlを加えて室温に7時間を放置し時々攪拌しながら酵素を抽出した。後濾紙で濾過し濾液を酵素液とした。なお出麹量は次のとおりであった。

Asp.usamii R-0635 (以下Aと略す) 137g

Asp.saitoi IFO-6670 (" B ") 145

Asp.niger IFO-5374 (" C ") 130

III 酵素作用力の測定法

各種酵素の測定は第3報に従った。特にCMC、メイプロガム、キシランに対する還元力増加の作用では120分間反応後1N-NaOH 2mlを添加した。

またいずれの場合においてもpH4.5の酢酸塩緩衝液を使用した。

結果ならびに考察

I ペクチン分解作用

ペクチンおよびペクチン酸に対する粘度低下率および還元力、ペクチンエステラーゼ活性をまとめて表1に示す。

菌 株	基 質	ペクチン	ペクチン酸	ペクチン※3 エステラーゼ
A	粘度低下率※1	97.03	92.39	0.68
	還 元 力※2	15.03	26.64	
B	粘度低下率	97.41	91.03	1.12
	還 元 力	13.80	21.45	
C	粘度低下率	86.78	68.82	—
	還 元 力	10.43	18.67	

表1 ペクチン質分解酵素

※1: A%で示す ※2: ガラクチュロン酸mg/10ml

※3: N/50°NaOHml

黒カビの生産するペクチン分解酵素については斎藤⁽²⁾、Mill and Tuttobello等⁽³⁾、および有馬等⁽⁴⁾により研究がなされている。そして有馬等によれば、黒カビは一般に高いendo-PGの生成ならびにリンゴ果汁に対する清澄作用のあることが知られている。そのうちでも *Asp. saitoi* は最も高いendo-PGを生産するが、一方exo-PGについては黒カビは検出し得べきものを生産しないと述べている⁽⁴⁾。筆者の実験に用いた3種の黒カビでは *Asp.usamii*, *Asp. saitoi* がペクチンおよびペクチン酸に対して強い粘度低下力を示したが、*Asp. niger* は二者にくらべて少なく、殊にペクチン酸に対しては可成り低い力価を示した。そして用いた3種ともペクチン酸に対するよりもペクチンに対する作用が少しではあるが強かった。この傾向はexo-PG作用についても同様である。一般にexo-PGはペクチン酸を末端から分解し、ガラクトン酸を生成するが、endo-PGにくらべると適応的傾向が多く生成量も非常に少ないと云われている⁽⁵⁾。また表1で興味あることは *Asp. niger* についてペクチンエステラーゼ作用が検出し得なかったにもかかわらずペクチンに対して約87%の粘度低下力を示すことである。ペクチンエステラーゼを完全に除去されたendo-PGがペクチンに対しても作用を有することは知られているが、筆者の場合、実験に使用したペクチンはカルボキシル基のうち約55%がメタノールとエステル結合しており、残りの約45%がフリーのカルボキシル基になっていると推定される。それでこれらのフリーのカルボキシル基のあるところの1, 4-結合に対して作用し上述の結果を与えたものと考えられる。

次にマセレーション力、果汁清澄作用について表2に示した。いずれもその数値水抽出液中には馬鈴薯に対する崩壊作用がみられ、また果汁に対しても作用が認められフロックを形成し

菌 株	マセレーション力	清 澄 作 用
A	135分	+
B	150	+
C	150	+

表2 マセレーション力と清澄作用

で沈下しあとには透明な液が得られた。今仮りにマセレーション作用が endo-PG とペクチンエステラーゼの共同作用によってのみ起きるとすれば *Asp. niger* においては両者の作用はいずれも他のものにくらべて弱いにもかかわらず大体 *Asp. saitoi* と同様な力価を示していることと矛盾する。前報において述べたように他にマセレーション作用を示す酵素があるのかも知れない。有馬等によれば *Asp. saitoi* の endo-PG を硫酸分画等によって純化した製品を得て、この酵素標品はペクチンエステラーゼ、トランスエリミナーゼおよびリンゴ果汁に対する清澄作用はもっていないが馬鈴薯切片を単独に *macerate* したことを述べている⁽⁶⁾。この実験に用いた菌株がこれと同様な結果を与えるかどうかは酵素の精製を行なった上で検討する必要がある。ついでセルラーゼ系の酵素について汙紙に対する崩壊力、セルローズパウダーに対する還元力、CMCase について表 3 にメイプロガム、キシランに対する作用については表 4 に一し括て示した。

菌 株		A	B	C
区 分				
漚 紙	崩 壊 度 (%)	55.65	—	36.42
セルローズ パウダー	糖 化 力 (グルコース mg/10ml)	1.11	5.73	—
C M C	液 化 力 (A%)	81.95	41.20	91.84
	糖 化 力 (グルコース mg/10ml)	7.70	7.38	7.09

表 3 漚紙崩壊力およびCMCase

		A	B	C
メイプロガム	液化力 (A%)	89.39	63.32	80.82
	糖 化 力 (グルコース mg/10ml)	2.31	1.95	1.96
キシラン	糖 化 力 (グルコース mg/10ml)	7.06	4.41	6.15

表 4 メイプロガム・キシランに対する作用

表 3 に示す様に汙紙崩壊力は *Asp. usamii* ついで *Asp. niger* にその活性が認められたが *Asp. saitoi* には認められなかった。またセルローズパウダーに対する活性では *Asp. saitoi*.

Asp. usamii には認められたが、*Asp. niger* には殆んど認められない。液化型の CMCase では明らかに *Asp. niger* がすぐれている。さらに *Asp. saitoi* はガラクトマンナンおよびキシランに対する作用力が他にくらべて弱い。(表 4) 一般に *Asp. niger* の酵素剤によりでんぷん含有物質の細胞膜破壊によるでんぷんの放出はよく知られている。また筆者等も *Asp. niger* の市販酵素剤および *Asp. saitoi* を使用して生いもに対するマセレーション使用を調べた結果、両者ともほぼ同じ作用力がみられたが一方細胞でん粉からのでん粉遊離率では前者で約 94% の作用力がみられたが後者では殆んどその活性は認められなかったことを見出している⁽⁷⁾。このことを前報でも述べた様に細胞壁の分解に最も寄与するのは汙紙崩壊性セルラーゼであるとすれば表 3 における *Asp. saitoi* と *Asp. niger* の結果について説明がつく。

しかし *Asp. usamii* はセルラーゼ系酵素については、*Asp. niger* と同じ位またはそれ以上の作用力を有するにもかかわらず顕微鏡写真による所見では 40 時間経過後においてもでん粉粒の放出はみられない。この点については更に詳しく追試する必要がある。

〔あとがき〕

Asp. usamii, *Asp. saitoi*, *Asp. niger* の 3 種の黒カビをを穀培養し、その水抽出液についてペクチナーゼ系酵素およびセルラーゼ系酵素について調べた。その結果 1) *Asp. usamii*, *Asp. saitoi* ではペクチン、ペクチン酸に対して大きな粘度降下作用を示したが *Asp. niger* では少し劣る。また *Asp. niger* にはペクチンエステラーゼ作用が殆んど見出せなかった。2) 用いた 3 種はともにマセレーション作用を示しまた果汁清澄作用も顕著であった。3) *Asp. saitoi* にはセルローズパウダーに対する作用がなかった。CMC, メイプロガムに対しては *Asp. saitoi* が最も悪かった。等の知見を得ることができた。

文 献

- 1) 藤井昇, 外山信男, 醸工, 42, 105 (1964)
- 2) 斉藤日向: 農化, 28, 810 (1954)
- “ : 農化, 28, 814 (1954)

- 3) P. J. Mill and R. Tuttobello : Biochem. J., 79, 57 (1961)
- 4) Kei Arima, Makari Yamasaki and Tsuneo Yasui; Agr. Biol. chem., 28, 248 (1964)
- 5) 遠藤章 : 発協誌, 21, 91 (1963)
- 6) Makari Yamasaki, Tsuneo Yasui and Kei Arima; Agr. Biol. chem., 30, 1119 (1966)
- 7) 浜崎幸男, 松久保好太朗, 川原一; 昭和39年度日本農芸化学西日本支部大会発表(宮崎)

4. 2. 9 でん粉廃水のクエン酸発酵への利用 (その2)

工場実験と脱汁糖液, 蛋白の利用

松久保好太朗

〔要 旨〕

前報のシャーレ試験の結果に基づいて, クエン酸発酵の副原料の米ぬかの一部をでん粉廃水沈でんで代替する発酵試験を工場規模で行なった。培地組成は, 乾燥でんぶん粕に対し, 米ぬか4%, でんぶん廃水沈でん(固型分2.52%, 全窒素0.12%) 200%とした。

115時間の培養で, 無水培養物中に平均 42.6%のクエン酸が蓄積し, 対使用全糖57.7%の収量が得られた。この結果は米ぬか単用の常法培地より低い収率であるが, 工場規模においてもでんぶん廃水沈でんを有効に利用しうることがわかった。この試験では廃水の沈でんが十分でなく, 理想的な培地を調製することが出来なかったが, 濃厚な沈でんが得られれば, 代替率を

高められ, 発酵効率も更に高くなるであろう。

また, 濃厚脱汁方式のでんぶん製造実験で得られた汁液糖蜜と蛋白もクエン酸発酵培地に添加することによって有効に利用されることをシャーレ試験によって知った。特に糖蜜を添加することは, 培地の糖濃度を高めることになり, 使用全糖当りの収率を低下することなく, 同一容積からの酸収量を15%高めることが出来た。蛋白は 100%米ぬかと代替することが可能である。

〔昭和42年度日本農芸化学会西日本支部大会講演(42.10.10佐賀大学)〕

〔昭和42年度鹿児島県澱粉汚水処理対管調査研究報告書〕

4. 2. 10 でんぶん廃水の散水汙床による処理の検討 (その2)

長谷場 彰, 盛 敏

前年度に引続き本法によるでんぶん廃水の浄化処理に関する基礎的な実験として, 比較的高濃度の廃水(COD 3,000ppm程度)を対象とした二段汙床実験装置による処理実験を行ないつぎの結果を得た。

〔要 旨〕

- 1) 一段汙床において, COD 負荷量 $1 \text{ Kg/m}^2 \cdot \text{d}$ (BODとして $1.2 \text{ Kg/m}^2 \cdot \text{d}$) のとき, CODの浄化率は約70%であった。
- 2) 負荷を大きくする場合, 散布量より散布濃度を高めた方が浄化率に与える影響が少なかった。
- 3) 廃水の濃度は COD 2,000~3,000ppm 程度が適当と考えられ, それ以上の希釈は散布量の増大を招き利点は少ないものと考えられ

た。

- 4) 二段汙床の処理効果は顕著で, COD負荷量 $1 \text{ Kg/m}^2 \cdot \text{d}$ 以下でCODの90%以上が浄化され, そのうち第1汙床の浄化率が約80%を占めた。
- 5) COD 3,000ppm 程度の廃水について, 二段汙床の連続処理を行った結果, COD除去率の平均は86.4%, 処理水のCODは約400ppmとなった。さらに, 他の成分の除去率は, 酸度89.2%, 蒸発残渣68.7%, 粗蛋白73.3%, BOD84.3%であった。

以上, 本実験においてはかなりの処理効果が期待できることを認めたが, 一方現在のでんぶん企業の実態をみると, これを直ちに採用することは非常に困難であり, 他的高级処理と同