

2. この際の澱粉価のロスは7~10%である。
 3. この貯蔵甘藷は, アルコール醗酵の掛け醗として, そのまま使用出来るが, アミロ法では少量の窒素を補わねばならぬ. 又煮沸条件を穀類なみにする必要があるがその他特に支障を認めなかつた.

(昭和 32. 9. 10 受理)

微生物の生産する酵素並びに其の利用に関する研究

(第11報) *Penicillium* 菌アミラーゼ, プロテアーゼの性質に就いて

坂本 政義・守随 稀雪 (科学研究所)

緒 言

Penicillium 菌約10種の酵素生産に就いては前報¹⁾に記載したが本報では此等の Amylase, Protease の澱粉, 蛋白の消化並びに Paper electrophoresis に関して検討した.

I. 実験方法

1. 供試菌株

Penicillium 11 種並びに其の類似菌 *Scopulariopsis brevicaulis* に就いて試験した.

2. Amylase, Protease 作用pH

- 1) 酵素液. *Penicillium* 麩麩10倍抽出液を酵素原液とした.
 2) 基質. Protease 作用基質として Gelatin, Peptone, Casein; Amylase 作用基質として Soluble starch を使用した.
 3) Amylase 測定法. α -amylase は WOHLGEMUTH 法に依る時間 (min), S-amylase は其の還元力を BERTRAND 法に依り KMnO_4 (1cc eq. 4.99mgCu) cc 並びに還元糖生成量 (mg) で表示した.

4) Protease 測定法. Gelatin, Peptone 基質の場合は Formol titration 即ち 4.0% Gelatin, 4.0% Peptone 各15cc, MCILVAINE buffer soln. 10cc, Enzyme soln. 5.0cc, Toluol 2.0cc 調製液を共栓試験管に採取し40°C, 24 hr 消化後 N/10 NaOH にて滴定した容量 cc (Control との差) を以て表示した.

2. Amylase, Protease 作用の経時曲線

1) 糖化曲線. 4.0% Soluble starch 50cc, MCILVAINE buffer soln. 40cc, Enzyme soln. 10cc, Toluol 2cc の配合にて40°C, 8hr 消化其の間経時的に2.0cc Sampling 其の糖量 (mg) と時間との関係を図示した.

2) 蛋白消化曲線. 10% Gelatin 75cc, MCILVAINE buffer soln. 45 c.c., Enzyme soln. 20cc, pH 規制後 Toluol 5cc 添加し共栓フラスコ内にて38°C, 24hr 消化此の間経時的にアミノ酸生成量を測定し時間との関係を図示した.

3. Amylase, Protease の Paper electrophoresis

N/20 phosphate buffer soln. (pH=6.9) を電解液として 500D.C. volt, 6mA, 4hr 条件下に泳動させ移動 Spot の確認は Agar plate method に依つた.

Table 1. *Penicillium* amylase 作用と pH との関係

Species	Amylase	作用 pH				
		3.5	4.0	4.5	5.0	5.5
<i>P. thomii</i>	α -amylase	100	50	55	70	>100
	S-amylase	5.36	6.21	5.88	4.10	3.21
<i>P. chrysogenum</i>	α -amylase	>150	100	60	55	65
	S-amylase	2.68	3.69	4.11	4.26	3.95

II. 実験結果

1. Amylase, Protease 作用の pH 曲線

1) Amylase 作用と pH との関係.

(Table 1 参照)

P. thomii の α -amylase, S-amylase 作用の Opt. pH=4.0, *P. chrysogenum* の Amylase 作用の Opt. pH=5.0 で前者は Black Asperigilli, 後者は Greenish-yellow Asperigilli の場合と近似の作用 pH であつた.

2) Protease 作用と pH との関係.

(Fig. 1, 2 参照)

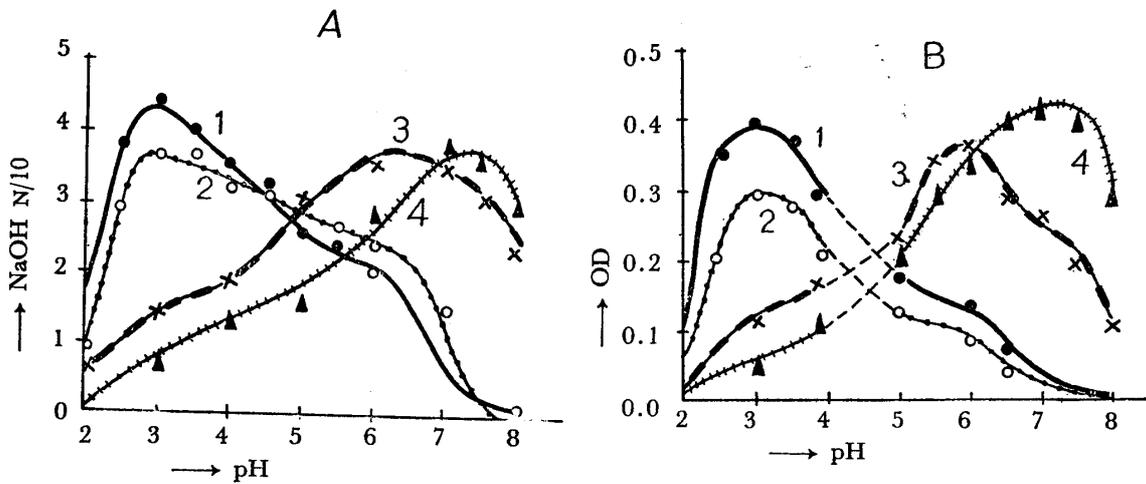


Fig. 1. *Penicillium* proteaseに依る蛋白消化と pH との関係

A. Gelatin 基質

Curve 1. *P. thomii*

2. *P. oxalicum*

B. Casein 基質

Curve 3. *P. chrysogenum*

4. *Scop. brevicaulis*

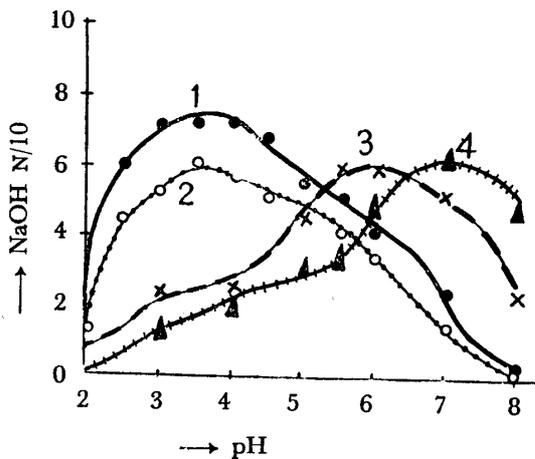


Fig. 2. *Penicillium* protease に依る Peptone 消化と pH との関係

Curve 1. *P. thomii*

2. *P. oxalicum*

Curve 3. *P. chrysogenum*

4. *Scop. brevicaulis*

Gelatin 基質の場合は *P. thomii*, *P. oxalicum* の Protease 作用力は pH=3.0~4.0に Peak を示し pH=6.0 に於いても可成りの作用力を示した。 *P. chrysogenum* の Protease 作用力は pH=6.0に於いて Peak を示し *Scop. brevicaulis* の其れは pH=7.0~7.5で Maximum であつた。 Peptone 基質の場合も Gelatin の場合と同傾向の消化曲線であつた。

Casein 基質の場合 ANSON 法に依る pH 曲線では *P. thomii*, *P. oxalicum* の Opt. pH=3.0, *P. chrysogenum* の Opt. pH=5.5~6.0, *Scop. brevicaulis* の Opt. pH=7.0~7.5であつた。

以上の結果から *P. thomii*, *R. oxalicum* は Protease 作用力が pH=3.0 附近に於いて Maximum を示す Acid protease system であり, *P. chrysogenum* は pH=6.0で Peak を示す Neutral protease system, *Scopulariopsis brevicaulis* は pH=7.0~7.5で作用性の Alkaline protease system が主体である事を認めた。

P. chrysogenum の Protease system は *P. notatum* の Opt. pH=5.5~6.0であるとする伊藤氏²⁾の報告と同傾向の結果であり, 而かも此の Protease system は *A. oryzae* に見られる Neutral protease system と類似するもの如く前報³⁾に記した *Rhizopus* の Neutral protease よりは *P. chrysogenum* の Neutral protease が *A. oryzae* の Neutral protease に著しく近似するものと思はれる。

2. Amylase, Protease 作用の経時曲線

1) 糖化曲線. (Fig.3 参照)

P. thomii, *P. chrysogenum* amylase の糖化曲線は他の Mold amylase の其れと対照すると前者は概して Black aspergilli の *A. usarii* type に近似し後者は *Rh. peka* type に近似するもの如くである。

2) 蛋白消化曲線. (Fig.4 参照)

Gelatin 消化の経時曲線は *P. thomii*, *P. chrysogenum* protease 共に大差のない漸昇曲線を示した。

3. Amylase, Protease の Paper electrophoresis.

1) Amylase (Fig.5 参照)

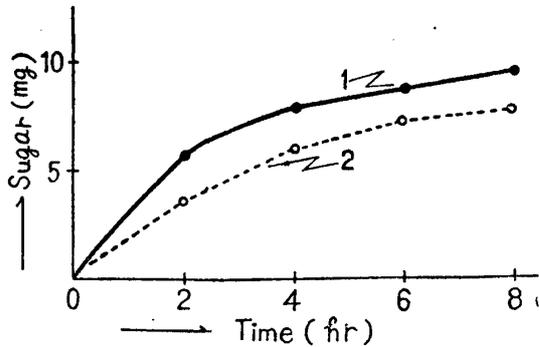


Fig. 3. *Penicillium* amylase に依る糖化曲線
Curve 1. *P. thomii*
2. *P. chrysogenum*

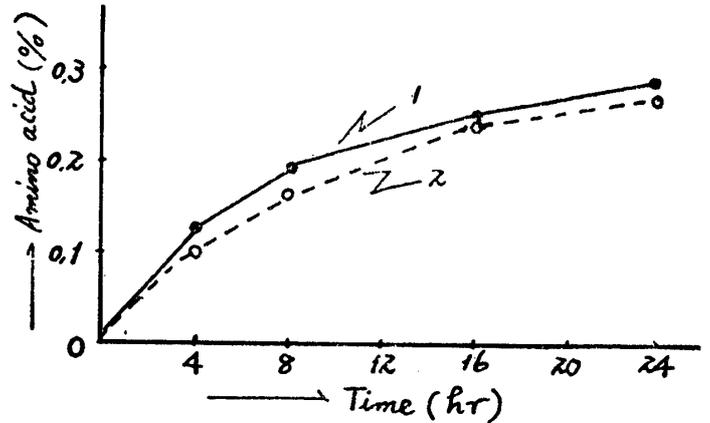


Fig. 4. *Penicillium* protease に依る Gelatin 消化曲線
Curve 1. *P. thomii*
2. *P. chrysogenum*

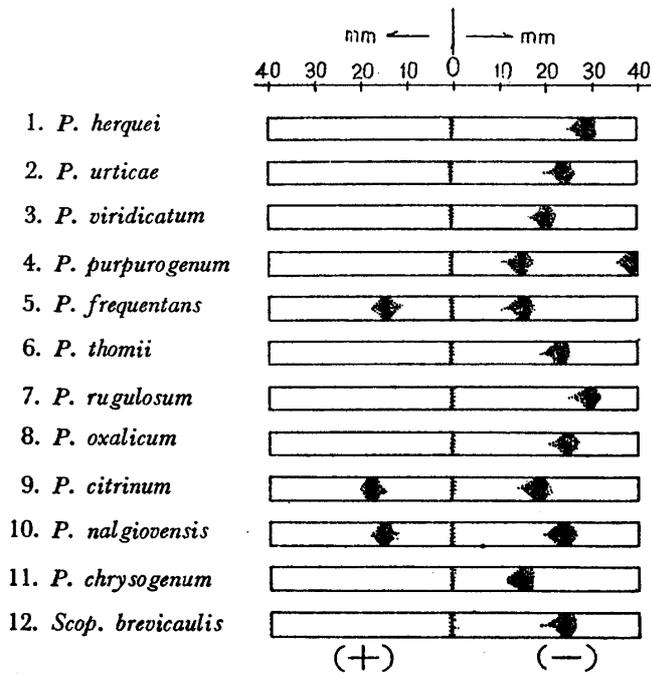


Fig. 5. *Penicillium* amylase の Paper electrophoresis

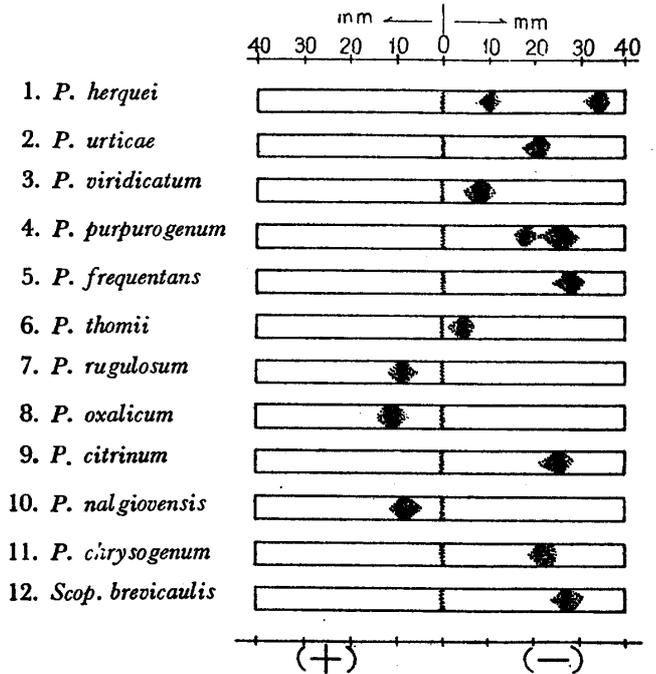


Fig. 6. *Penicillium* protease の Paper electrophoresis

Penicillium amylase の全部が Anode 側に泳動したが *P. purpurogenum*, *P. frequentans*, *P. citrinum*, *P. nalgiovensis* 等は 2 個の Spot を示現し、而かも後 3 者の Spot 1 個は Anode 側に示現した。

2) Protease (Fig. 6 参照)

Penicillium protease の大半は Anode 側に泳動したが *P. rugulosum*, *P. oxalicum*, *P. nalgiovensis* は Cathode 側に泳動した。*P. herquei*, *P. purpurogenum* は Anode 側に 2 個の Spot を示現した。

結 論

1) *P. thomii*, *P. oxalicum* の Amylase 作用 pH=4.0, Protease 作用 pH 3.0~4.0, *P. chrysogenum* の Amylase 作用 pH=5.0, Protease 作用 pH=5.5~6.5, *Scop. brevicaulis* の Protease 作用 pH=7.0~7.5 に於いて好適であつた。

2) *P. thomii*, *P. oxalicum* は Black aspergilli の Acid protease system ; *P. chrysogenum* は Greenish-yellow aspergilli の Neutral protease system 生産性と共通する点あるを伺へる。

3) Paper electrophoresis では *Penicillium* amylase, protease の大部分が Anode 側に泳動するが *P. rugulo-*

