

- 1039 清酒麹菌 *Aspergillus oryzae* の酸性フォスファターゼ・アイソザイムの生産特性
(広大院・先端研・分子生命機能 *(株)酔心山根本店, **酒類総合研) ○藤田 仁,
山根雄一*, 福田 央**, 若林三郎**, 河本正次, 秋 庸裕, 重田征子, 小埜和久

【目的】清酒麹菌 *Aspergillus oryzae* が生産する無機リン酸 (Pi) 遊離酵素 (酸性フォスファターゼ・フィターゼ) は、清酒醪の並行複発酵に大きく寄与していることが知られている¹⁾。また先に著者らは、これら二種の酵素のうちフィターゼが、醪中の酵母への Pi の供給に重要な役割を担っていることを報告した²⁾。本研究では、麹菌の酸性フォスファターゼ (ACP) を精製し、得られた各アイソザイムの諸性質と生産条件を検討した。

【方法及び結果】*A. oryzae* RIB-128 を供試菌とし、フィチン酸を単一リン源とする改変 Czapek-Dox 培地にて液体振盪培養を行った。酵素の精製は、イオン交換及びゲルろ過で行った。ACP 活性は、p-ニトロフェニル(PNP)リン酸を基質とし、pH 4.0、30℃で1分間に1μmolのPNPを遊離する酵素量を1unitとして表した。培養開始72時間後、6.1 units/mlのACP生産を得た。この培養液中に存在する3種のACPアイソザイム(ACP-I, ACP-II, ACP-III)を精製し、各アイソザイムの生産を経時的に追跡したところ、培養初期にACP-IIが生産され、次いでPiの蓄積とこれによるpH低下が見られる培養中期にACP-Iが生産された。ACP-IIはPiの増加又pH低下でその活性が著しく低下した。ACP-IIIは、細胞の自己消化が生じ、pHの上昇が見られる培養後期に生産された。以上の結果から、各ACPアイソザイムの生産は培養時の環境条件と密接に関連することが示唆された。

¹⁾岡部ら, 醸協, 91, 203-208 (1996). ²⁾ Fujita et al., *Biotechnol. Lett.*, 23, 867-871 (2001).

Properties of acid phosphatase isozymes produced by *Aspergillus oryzae*.

○ Jin Fujita, Yu-ichi Yamane, * Hisashi Fukuda, ** Saburo Wakabayashi, ** Seiji Kawamoto, Tsunehiro Aki, Seiko Shigeta, Kazuhisa Ono. (Grad. Sch. Adv. Sci. Matter, Hiroshima Univ., *Suishin Yamane Honten Co. Ltd, **Nat. Res. Ins. Brewing)

【key words】*Aspergillus oryzae*, acid phosphatase isozyme, purification, submerged culture.

- 1040 麹菌バイオリアクターによるエチル- α -グルコシドの連続生産
(東京農大・醸造) 中西載慶、○中沢 守、西尾 理、佐藤 壮、
徳田宏晴

【目的】前報でエチル- α -グルコシド(α -EG)生産に適した酵素生産菌(*Asp. kawachii* N-3)を選択し、マルトースおよびデンプン基質からの α -EG生産について報告した。そこで、本報では、当該酵素が菌体結合性である特性を利用して、液体培養菌体を用いたカラム型バイオリアクターを構築し α -EGの連続生産について検討した。

【方法および結果】市販マルトオリゴ糖シロップからの α -EGの最適生産条件は、反応液pH6.0、反応温度45℃、エタノール濃度30%、基質濃度10%とし、添加湿菌体量は12~24g/100mlであることがわかった。培養菌体の使用にあたっては、70%エタノールで30分程度前処理することが効果的であった。 α -EGの連続生産においては、エタノール処理した湿菌体30gを充填したガラスカラム(ϕ 37cm×230cm, 250ml)を二連結し、上記反応条件下で基質溶液を15~20ml/hで送液した。その結果、 α -EG収量は19~22g/l、対糖収率は26~30%であった。なお、本リアクターは2ヶ月(1440h)に渡って安定であり、反応3ヶ月後(2160h)においても初発の約85%の生産性が維持されており、本リアクターの極めて高い安定性が示された。

本研究は、経済産業省「アルコール専売事業特別会計研究開発委託費」により(社)アルコール協会からの再委託研究の一部として行ったことを付記し、深謝する。

Continuous production of ethyl- α -glucoside using cell-bounded
 α -glucosidase in *Aspergillus kawachii* N-3

Kotoyoshi Nakanishi, ○Mamoru Nakazawa, Satoshi Nishio, So Sato, and Hiroharu Tokuda

(Dept. of Brewing and Ferment., Tokyo Univ. of Agriculture)

【Key words】Ethyl- α -glucoside, *Aspergillus kawachii*, Bioreactor