

( 22 )

る。オリーブ油などの分解は pH 7.0 が最適である。Triglycerides は triolein > tributyrin > triacetin の順に分解し、triacetin の分解はあまりよくなかった。脂肪酸モノエステルの分解は微弱であった。このリパーゼの triglycerides の分解、合成方式、基質特異性およびその他の酵素化学的性質について報告する。

### 117. $\beta$ -アミラーゼ活性におよぼす非イオン界面活性剤の影響

静岡薬大 ○小島 操, 石川登志子  
比佐とし子※

**目的**  $\beta$ -アミラーゼはイオン界面活性剤により、その活性が阻害されることは知られているが、非イオン界面活性剤によっては、その活性に影響されないという報告が多い。

果して影響されないのかどうかについて、実験を行なった。

**方法**  $\beta$ -アミラーゼは福本、辻阪の方法に準じて大豆より結晶化して使用した。活性の測定は試験管に Walpole 緩衝液 (pH 5.2) 4 ml, 界面活性剤溶液 2.5 ml および  $\beta$ -アミラーゼ液 1 ml を加え、室温、60 分前処理後、2% 可溶性澱粉液 2.5 ml を加え、37°C 恒温水槽中、60 分反応せしめ、生じた還元糖を 3,5 ジニトロサリチル酸法にて測定し、吸光度を活性とし、対照と比較した。なお界面活性剤としては、ポリオキシエチレンソルビタンの脂肪酸エステルを主として 7 種類の非イオン系、オスバン (カチオン系)、ラウリル硫酸ソーダ (アニオン系) および 4 種類の両性イオン系の計 13 種を用いた。

**結果** オスバンおよびラウリル硫酸ソーダは明らかに  $\beta$ -アミラーゼ活性を阻害した。しかし、非イオンおよび両性イオン界面活性剤は溶液調製当初には、その活性に影響をおよぼさなかったが、ツィーン 80 (ポリオキシエチレンソルビタンモノオレート) のみは溶液調製後、室温に放置すると、次第に活性を阻害するようになった。ツィーン 80 溶液は調製当初は 235 m $\mu$  に吸収を有するが、日数が経過すれば消失の傾向にあり変性が認められた。酸価、鹼化価も増加した。また、日数が経過したツィーン 80 溶液を  $\beta$ -アミラーゼ液に混ぜれば 280 m $\mu$  における吸光度が大になることより、酵素蛋白を変性せしめ、活性阻害を起させたものと考えた。

### 118. *Aspergillus niger* U<sub>20</sub> 2-5 の生産する糖化アミラーゼについて

### 精製ならびに 2, 3 の性質について

理化学研究所 ○上山英夫, 富金原 孝  
阪大工, 醸酵 照井堯造

**目的** *Aspergillus niger* U<sub>20</sub> 2-5 の液内培養により生産される糖化アミラーゼは前報 (昨年本大会で発表) で報告したようにきわめて耐酸性であるが、これをさらに精製標品について確認し、2, 3 の性質を検討することを目的として本実験を行なった。

**方法** 糖化アミラーゼの測定、蛋白質量の測定、pH の測定などは全て前報に準じて行なった。

**結果** *Aspergillus niger* U<sub>20</sub> 2-5 の液内培養により生産される糖化アミラーゼに酸性白土による不純物の吸着、リバノール沈澱法、Amberlite IRP-60 による不純蛋白質の吸着および pH 8~9, 40°C, 1 時間の条件下における糊精化アミラーゼの除去操作を行ない、最終段階において、DEAE-セルロースを使用して pH を 8.8 から 3.0 に変化せしめて吸着、溶出を行ない、超遠心法、チゼリウス電気泳動などによって単一なる 2 種類の糖化アミラーゼの精製標品を得た。この 2 種類の糖化アミラーゼは *Rhizopus* sp. の生産する糖化アミラーゼと比較した結果、ともに耐酸性であり、きわめて類似した性質を示した。しかし、チゼリウス電気泳動を分画した 2 種類を混合して行なったときに区別される。ここに分画した 2 種類の糖化アミラーゼのうちの 1 種類について検討した結果、Km は pH 5.3 において  $2.5 \times 10^{-4}$  g/l なる値を可溶性澱粉に対して示し、pH 5.3 における熱失活の見掛けの活性化エネルギーは 160 kcal/mol 熱失活は 1 次反応に従い、pH 5.3 において 30, 50, 55 および 60°C における  $-k[\text{min}^{-1}]$  はそれぞれ  $30 \times 10^{-7}$ ,  $15 \times 10^{-6}$ ,  $38.5 \times 10^{-5}$  および  $43.3 \times 10^{-4}$  を示した。

16. 00

### 119. *Rhizopus* 属のアミラーゼ生成におよぼす CMC の影響

工技院発研 ○大徳祥松, 高原義昌

**目的** *Rhizopus* 属の糖化酵素について検討中、培地に少量の CMC を添加することにより、アミラーゼの生成が著しく促進されることを認めた。

この点についてさらに検討を加えるとともに、*Aspergillus* 属についても試験した。

**方法** 斜面培養した糸状菌の 1 白金耳を培地に接

種し、液体培養では 30°C で 96 時間、固体培養では 30°C で 144 時間静置培養した。培地は *Rhizopus* 属にはデキストリン・ペプトン培地、*Aspergillus* 属にはツァベック・ペプトン培地を、また固体培地には麩培地を用いた。

アミラーゼは液体培養では培養液を、固体培養では10倍水抽出液を酵素液として、発研法により定量した。ただし、糖はソモギー変法によりグルコースとして算出した。

**結果** *Rhizopus* 属の培養にさいし、少量の CMC を添加することにより、アミラーゼの生成が促進される。この傾向は培地の糖濃度が低い程顕著である。

CMC の添加によるアミラーゼの促進効果は *Rhizopus* 属ばかりでなく、*Aspergillus* 属についても同様に認められる。

これは糸状菌が同時に生成するセルラーゼによって CMC が cellobiose となって促進作用が起るものと考えた。

## 120. 微生物の形質維持に関する研究

### (第3報) アミロ菌の各種培地における糖化力

工技院発研 ○相川忠治, 高原義昌

**目的** 前報にて胞子の age と糖化力の間には各菌株に固有の関係があり、特定の age で力価は最高値を示し、この点を無視すれば見掛けの低下は避けられないことを報告した。

本報では各種培地の組成の差異によりうける糖化力の変化の有無や程度について知見を得て、継代培養による低下をできるだけ防止することを目的として検討した結果、ならびにデキストリン・ペプトン培地に継代培養した時の糖化力の安定性について報告する。

**方法** 標準菌株 (*R. javanicus* Takeda 52—10) を用い、各種培地に前培養後、簡易単胞子培養法により培養した平面培養から、50~60ヶのコロニーを同一組成斜面に移植し、30°Cに7日間培養したのち前報と同様に糖化力を測定した。

この測定値から各培地における糖化力の平均値と標準偏差とを算出した。

また、デキストリン・ペプトン培地に7日ごとに植継を行ないつゝ糖化力を測定し、同培地に継代培養した時の糖化力の安定性を検定した。

**結果** 1. 糖化力の平均値は培地間では特に差異を認められないばかりでなく、親株との差も認められ

ない。

2. 標準偏差はデキストリン・ペプトン培地が最も小さく、培地として優れていることが認められる。馬鈴薯を主とする培地は使用するイモによって差異が大きい。

3. デキストリン・ペプトン培地では20代程度の植継では特に差異は認められない。

## 121. Glucamylase の工業生産における接種管理

阪大工, 醸酵 田口久治, ○前田昌彦  
寺本四郎

**目的** 深部培養による醸酵生産においては大容量のタンク程生産収率の安定を欠くことが多い。装置自身のスケールアップの不完全とともに接種条件の管理方法の適否がその因をなしていると考えられる。本報においては前培養経過時における生産菌の内部呼吸力を管理対象とし、生産槽における発育、生産との関係を追究した結果について述べる。

**方法** 前培養は 20 l ジャーファーマンターにて行ない、培養15時間の後1時間ごとにポーラログラフによる試料採取法で  $Q_{O_2}$  を測定し、 $Q_{O_2}$  と菌体重量 (m) の積  $mQ_{O_2}$  の最大値を決定した。 $mQ_{O_2}$  の値が低い時期、最大値を示す時期に 20 l の生産タンクに接種し *Endomycopsis* 株の発育と gluc-amylase 生産を検討し、その結果を 40 ton 生産タンクに応用した。

**結果**  $mQ_{O_2}$  値最大の範囲で接種した時には発育速度順調で培養液の粘度も最大 200 c. p. にしか増加せず、gluc-amylase 力価も 3000 u/ml に達する。一方  $mQ_{O_2}$  値の低い時期の接種では発育の著しい遅延がみられ粘度も最大 500 c. p. に上昇し力価は 2000 u/ml にとどまった。これらの結果は 40 ton タンクにおいても観察され、従来の菌重量、前培養時間によってのみ接種時期を決定する方法の改良に対する一策が考えられた。